آنزیم ATP سنتاز میتوکندریایی موتور مولکولی با شکوه

نظام جلیلیان
دبیر زیست‌شناسی خرمشهر

اشاره

این مقاله‌ای دربارهٔ آنزیم ای.تی.پی سنتاز و مکمل بحث تولید انرژی در میتوکندری‌هاست که در فصل هشتم کتاب درسی زیست‌شناسی سال چهارم به آن اشاره شده است.

مقدمه

مولکول‌های NADH و $FADH_2$ در زنجیرهٔ انتقال الکترون دچار اکسایش می‌شوند. سال‌ها چگونگی جفت شدن اکسایشی این مولکول‌ها با تولید ATP نامشخص بود، تا این‌که در سال ۱۹۶۱ محققی به نام پیتر میشل[1] فرضیهٔ شیمی اسمزی[2] را برای توجیه آن ارائه داد. طبق این فرضیه، انتقال الکترون از طریق زنجیرهٔ تنفسی منجر به تلمبه شدن پروتون‌ها از ماتریکس میتوکندری به فضای بین دو غشای آن می‌شود، به‌طوری که pH ماتریکس به اندازهٔ ۱/۴ واحد کمتراز فضای بین دو غشا می‌شود. بنابراین، شیب الکتروشیمیایی در دو سوی غشای داخلی به‌وجود می‌آید. این شیب، نوعی نیروی محرکهٔ پروتونی[3] ایجاد می‌کند که توسط آنزیم ATP سنتاز (F_1 F_o ATPase) برای سنتز ATP مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مقاله به اختصار ساختار و نحوهٔ عمل این آنزیم را مورد بررسی قرار خواهیم داد. این آنزیم با توجه به‌وجود کمپلکس‌های I تا IV در زنجیرت انتقال الکترون، گاه کمپلکس شمارهٔ پنج (V) نیز نامیده می‌شود.

کلیدواژه‌ها: ATP، فرضیهٔ شیمی اسمزی میشل، زنجیرهٔ انتقال الکترون.

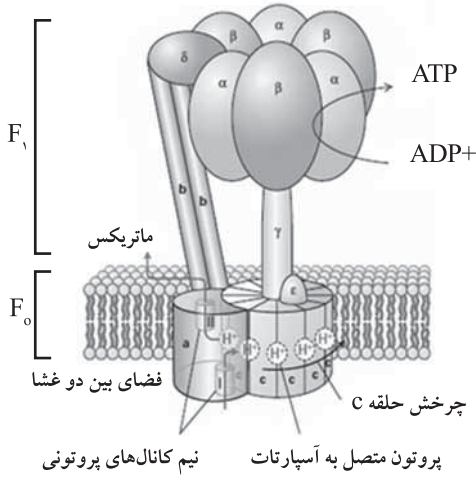
ساختار آنزیم ATP سنتاز

از نظر شکل ظاهری، آنزیم ATP سنتاز میتوکندریایی را می‌توان به توپی که بر سر میله‌ای قرار دارد تشبیه کرد. ناحیهٔ میله مانند که زیرواحد F_o نامیده می‌شود، درون غشای داخلی میتوکندری قرار گرفته است و کانالی برای عبور پروتون‌ها تشکیل می‌دهد (o نشان‌دهندهٔ حساسیت آن به اولیگومایسین است). اما قسمت توپ مانند که زیرواحد F_1 نام دارد به درون ماتریکس میتوکندری بیرون زده و سنتز ATP را به عهده دارد.

ساختار کلی آنزیم ATP سنتاز در سلول‌های مختلف مشابه، اما ترکیب زیرواحدهای آن متفاوت است. در ساده‌ترین شکل این آنزیم، بخش F_o از سه نوع زیرواحد a، b و c با نسبت ab_2c_{10-14} و بخش F_1 از پنج نوع زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی مختلف با نسبت $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\varepsilon$ تشکیل شده است. از زیرواحدهای تشکیل‌دهندهٔ بخش F_1 فقط زیرواحدهای β توانایی سنتز ATP را دارند.

بخش‌های F_o و F_1 آنزیم، از طریق دو زیرواحد b و زیرواحدهای a، γ و δ به هم متصل شده‌اند. وقتی پروتون‌ها از طریق بخش F_o آنزیم از فضای بین دو غشا به ماتریکس برمی‌گردند، زیرواحدهای c می‌چرخند. در این حالت، زیرواحدهای ε و γ نیز که محکم به واحدهای c متصل شده‌اند به چرخش درمی‌آیند؛ اما بخش هگزامر $\alpha_3\beta_3$ که از طریق زیرواحدهای δ و b به زیرواحد a متصل می‌شود ثابت باقی می‌ماند. بنابراین می‌توان گفت که آنزیم ATP سنتاز میتوکندریایی از دو قسمت عملکردی تشکیل شده است؛ یک قسمت آن چرخان یا حرکتی[4] است که از زیرواحدهای c، ε و γ تشکیل شده است و قسمت دیگر بخشی ایستا[5] یا ثابت است که زیرواحدهای a، b، δ و بخش هگزامر $\alpha_3\beta_3$ را شامل می‌شود.

در اغلب یوکاریوت‌ها، تعدادی از زیرواحدهای این آنزیم توسط ژنوم هسته‌ای و تعدادی دیگر توسط ژنوم میتوکندریایی رمزدهی می‌شوند؛ اما در جاندارانی همچون جلبلک‌های سبز، ژن‌های رمزگردان همهٔ زیرواحدها در هسته قرار دارند.



شکل ۱: آنزیم ATP سنتاز (F_1 F_o ATPase) و زیرواحدهای تشکیل دهندهٔ آن.

نحوهٔ عبور پروتون‌ها توسط بخش F_o

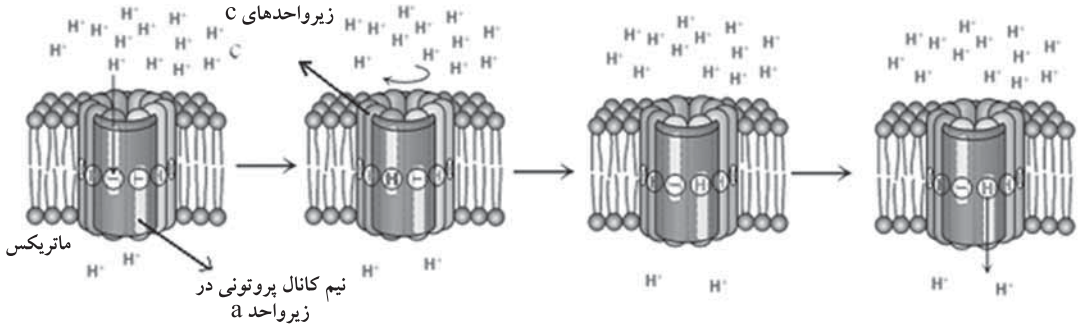
هر زیرواحد a از دو نیم کانال پروتونی تشکیل شده است، اما هیچ کدام از این نیم کانال‌ها به تنهایی همهٔ عرض غشا را طی نمی‌کند؛ به این علت، هر پروتون برای انتقال پروتون از غشا باید پس از عبور از یک نیم کانال توسط عامل دیگری به نیم کانال دیگر منتقل شود. این عامل همان حلقهٔ c است (شکل ۱). این حلقه از ۱۰ تا ۱۴ زیرواحد c شکل گرفته است. هر زیرواحد c از یک جفت مارپیچ آلفا تشکیل شده است که درون غشا جای دارند. در میانهٔ یکی از مارپیچ‌ها یک بنیان آسپارتیک اسید (Asp۶۱) وجود دارد که با توجه به ماهیت آب گریز غشای میتوکندری، خنثی یا پروتونه شده است. اما این بنیان در صورتی که در مجاورت نیم کانال‌های زیرواحد a قرار بگیرد، با توجه به محیط آب دوستی که در این نیم کانال‌ها وجود دارد، با از دست دادن پروتون، دارای بار منفی می‌شود و بنابراین دیگر نمی‌تواند درون غشا چرخش کند. البته این آسپارتیک اسید می‌تواند با گرفتن پروتون‌های درون ماتریکس و یا فضای بین دو غشا که به درون این نیم کانال‌ها وارد می‌شوند، مجدداً پروتونه و خنثی شود.

فرض کنید بنیان‌های آسپارتیک اسید مربوط به دو زیرواحد c که در تماس با نیم کانال‌های زیرواحد a هستند، پروتون‌های خود را از دست بدهند و بار آن‌ها منفی شود. با این اتفاق، این زیرواحدها دیگر قادر نخواهند بود در محیط آب گریز غشا چرخش کنند، اما با گرفتن پروتون‌های درون ماتریکس و یا فضای بین دو غشا می‌توانند مجدداً پروتونه و خنثی شوند و به درون غشا بچرخند. با توجه به این‌که غلظت پروتون‌ها در فضای بین دو غشای میتوکندری بیش از ۲۵ برابر ماتریکس است، ورود پروتون به درون نیم کانالی که به سمت فضای بین دو غشا (سیتوزولی) قرار گرفته باشد، محتمل‌تر است. بنابراین، زیرواحدی از حلقهٔ c که در مجاورت این نیم کانال سیتوزولی قرار دارد، با گرفتن پروتون خنثی می‌شود و در جهت عقربه‌های ساعت به سمت غشا می‌چرخد. با این چرخش دومین زیرواحد c دارای بار منفی که در مجاورت نیم کانال ماتریکسی قرار گرفته بود، به سمت نیم کانال سیتوزولی می‌گردد. از طرفی زیرواحد c دیگری که دارای آسپارتیک اسید پروتونه شده است، به سمت نیم کانال ماتریکس هدایت می‌شود. این بنیان، پروتون خود را از دست می‌دهد تا از طریق نیم کانال زیرواحد a به ماتریکس کم پروتون وارد شود. بنابراین هر پروتون برای عبور از غشای داخلی میتوکندری با کمک زیرواحدهای c و با حرکت کردن حول حلقهٔ چرخان c از غشا عبور می‌کند.

نقش جریان پروتون در تولید ATP

نتایج مطالعات تبادل ایزوتوپ نشان می‌دهند که حتی در نبود نیروی محرکهٔ پروتونی، آنزیم ATP سنتاز توانایی تولید ATP را دارد؛ اما این مولکول‌های ATP تا وقتی که پروتون‌ها از طریق بخش F_o آنزیم به درون ماتریکس جریان نیابند، قادر به ترک جایگاه فعال آنزیم (زیرواحد β) نیستند. بنابراین نقش شیب پروتونی دو سوی غشای داخلی میتوکندری تشکیل ATP نیست، بلکه رها شدن ATP از آنزیم سنتاز است. براساس مطالعات صورت گرفته، پائول بویر[۶] مکانیسم اتصال- تغییر[۷] را که به‌وسیلهٔ پروتون‌ها پیش برده می‌شود، برای سنتز ATP پیشنهاد کرده است.

اگر از بالا به بخش F_1 آنزیم نگاه کنیم (شکل ۳) هگزامر $\alpha_3\beta_3$ همانند برش عرضی پرتقال دیده می‌شود که زیرواحدهای β و α به صورت یک در میان کنار هم قرار گرفته‌اند. در مرکز این برش، زیرواحد γ به صورت یک محور مرکزی قرار دارد. بر طبق پیشنهاد پائول بویر که توسط مطالعات بلورنگاری نیز تایید شده است، یک زیرواحد β می‌تواند



شکل۲: حرکت پروتون در غشا، موجب چرخش حلقهٔ c می‌شود.

سه ساختار فضایی مختلف کسب کند: ساختار فضایی سخت[۸] یا T که گرایش بالای نسبت به ATP دارد، به‌طوری که ADP و Pi متصل به آن به سرعت ATP تبدیل می‌شوند، اما از آن جدا نمی‌شود. ساختار فضایی شل[۹] یا L که با تمایل زیادی به ADP و Pi متصل می‌شود این ساختار نیز نمی‌تواند نوکلئوتید متصل شده را رها کند و ساختار فضایی باز[۱۰] یا O که می‌تواند همراه با یک نوکلئوتید متصل شده به آن ساختاری شبیه به دو حالت قبل داشته باشد و یا این که نوکلئوتید متصل شده را رها کند. لازم به ذکر است که زیرواحدهای β از نظر توالی آمینواسیدی یکسان‌اند. این‌که یک زیرواحد β کدام ساختار فضایی را کسب کند بستگی به میانکنش آن با زیر واحد γ دارد. تبدیل این سه شکل با یکدیگر، به‌وسیلهٔ چرخش زیرواحد γ انجام می‌شود.

با عبور سه پروتون از بخش F_o آنزیم و انتقال آن‌ها به درون ماتریکس، زیرواحد γ به اندازه ۱۲۰ درجه در خلاف جهت عقربه‌های

ساعت می‌چرخد. بنابراین، میانکنش آن با زیرواحدهای β دچار تغییر می‌شود. در اثر این چرخش، زیرواحد β_1 که در ساختار فضایی O بوده است به ساختار L تبدیل شده ADP و Pi را به دام می‌اندازد. زیر واحد β_2 که ساختار فضایی T (متصل به ATP) دارد به ساختار فضایی O تغییر ساختار پیدا کرده و به همین علت ATP متصل به آن رها می‌شود. از طرفی زیر واحد β_3 که دارای ساختار L (متصل به ADP و Pi) بوده است به ساختار فضایی T تبدیل و این موجب می‌شود که ADP و Pi متصل به آن به ATP تبدیل شود. اما این مولکول ATP تا دور بعدی رها نمی‌شود. با عبور سه پروتون دیگر، باز زیرواحد γ به اندازهٔ ۱۲۰ درجهٔ دیگر در خلاف جهت عقربه‌های ساعت می‌چرخد و با تغییر ساختار فضایی زیرواحدهای β، دومین مولکول ATP رها می‌شود. بنابراین با چرخش ۳۶۰ درجه‌ای زیرواحد γ، سه مولکول ATP سنتز و به درون ماتریکس میتوکندری رها می‌شود.

عوامل مختلفی بر تعداد پروتون‌های انتقالی لازم جهت سنتز یک مولکول ATP تأثیر می‌گذارند. به همین علت تعیین این‌که برای سنتز هر مولکول ATP به عبور چند پروتون از درون آنزیم ATP سنتاز نیاز است، کار ساده‌ای نیست. تعداد زیرواحدهای c یکی از عوامل مؤثر بر تعداد پروتون‌های انتقالی برای سنتز یک مولکول ATP است. در واقع باید به تعداد این زیرواحدها پروتون از آنزیم عبور کند تا زیرواحد γ به اندازه ۳۶۰ درجه و سه مولکول ATP تولید شود.

مثلاً آنزیم ATP سنتاز موجود در باکتری اشریشیاکلای و میتوکندری مخمر، ۱۰ زیرواحد c دارد. بنابراین با عبور ۱۰ پروتون، سه مولکول ATP تولید می‌شود. به این ترتیب به ازاء عبور ۳/۳۳ پروتون از طریق آنزیم، یک مولکول ATP تولید می‌شود. البته برای سهولت فرض بر این است که برای تشکیل هر مولکول ATP باید سه پروتون به ماتریکس جریان یابد. تعداد زیرواحدهای c در آنزیم ATP سنتاز پستانداران بیشتر است و در ATP سنتاز کلروپلاستی این تعداد به ۱۴ عدد می‌رسد.

باید در نظر داشت که نیروی محرکهٔ پروتونی برای انتقال ATP از ماتریکس به سیتوزول نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. ناهمسوبر ADP/ATP موجب انتقال یک مولکول ADP به درون ماتریکس به ازای خروج یک مولکول ATP از میتوکندری می‌شود از طرفی برای تولید ATP به گروه فسفات نیاز است. همسوبر HOP_4^{-2}/H^+ گروه فسفات را به همراه یک پروتون به داخل ماتریکس منتقل می‌کند. بنابراین عملکرد توأم این دو انتقال‌دهنده به تبادل ADP و P_i سیتوزولی با ATP ماتریکس منجر می‌شود که به هزینهٔ ورود یک پروتون به ماتریکس انجام می‌گیرد. با این حساب برای ساخت هر مولکول ATP، به انتقال چهار پروتون از فضای بین دو غشا به درون ماتریکس نیاز خواهیم داشت. در زنجیرهٔ انتقال الکترون به ازای انتقال هر جفت الکترون $FADH_2$ و NADH به ترتیب شش و ده پروتون به فضای بین دو غشا تلمبه می‌شود بدین ترتیب ۱/۵ و ۲/۵ مولکول ATP سیتوزولی به ازای اکسایش هر یک از ترکیبات فوق تولید می‌شود.

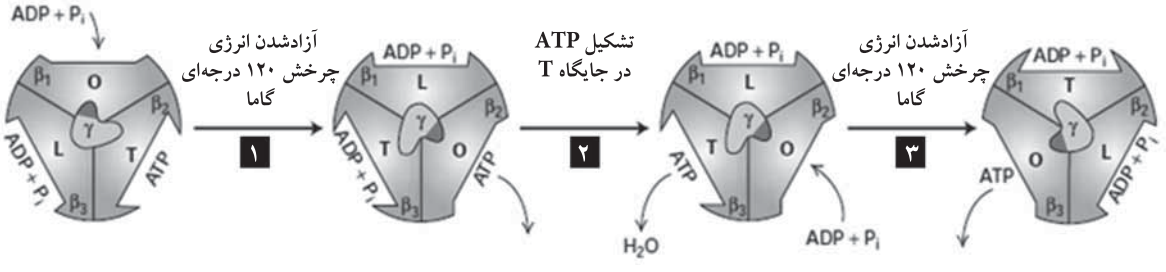
آنزیم ATP سنتاز می‌تواند در هر ثانیه تا حداکثر ۱۰۰ مولکول ATP بسازد. بازده تبدیل انرژی این آنزیم نیز نزدیک به ۱۰۰ درصد است. محققان از این آنزیم به عنوان یک موتور مولکولی باشکوه یاد می‌کنند و آن را کوچک‌ترین موتور مولکولی جهان می‌دانند.

پی‌نوشت

1. Peter Mitchell
2. Chemiosmotic hypothesis
3. proton motive force
4. Rotates
5. Static
6. Paul Boyer
7. Binding- change mechanism
8. Tight
9. Loose
10. open

منابع

۱. لنینجر، ترجمهٔ لیلا پروانه و همکاران، اصول بیوشیمی لنینجر، انتشارات ارجمند، ویرایش پنجم، (۲۰۰۸)
۲. امیری محمدحسین، زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، انتشارات فاطمی، چاپ اول، ۱۳۸۹
۳. ترجمه سعید امین‌زاده و...، بیوشیمی استرایر، جلد دوم، نشر خانه زیست‌شناسی، ویرایش پنجم، ۲۰۰۲
۴. رضا خدارحمی، بیوشیمی و بیوفیزیک متابولیسم، انتشارات نور دانش چاپ ۱۳۸۲
5. Scheffler, Immo E. Mitochondria. John Wiley & sons. 2008
6. Lodish, Harvey and et al. Molecular cell biology. Fifth edition. W. H. Freeman and Company. 2003.
7. Malgorzata Rak. Xiaomei Zeng, Jean- Jacques Briere, and Alexander Tzagoloff. Assembly of F. in Saccharomyces cerevisiaeBiochim. Biophys Acta. 2009 January; 1793(1):108-116.



شکل۳: مکانیسم اتصال- تغییر برای تولید ATP توسط آنزیم ATP سنتاز.