

**تفکیک غشاء سلولی**

**خلاصه**

بسیاری از فرایندهای مرتبط با غشاء سلولی نیازمند جدایی فضا-زمانی گذرای اجزاء در اندازه­هایی در مقیاس مولکول­های جفت شده تا میکرومتر هستند. درک این فرایندها نیازمند درک چگونگی خود-سازماندهی لیپیدها و پروتیین­ها و میانکنش آنها با کورتکس سلول است. در اینجا ما پیشرفت­های اخیر کالبدشکافی مکانیسم­های تشکیل غشاء سلولی را مرور می­کنیم. ما به چالش­های موجود در مطالعه­ی سازماندهی غشاء سلولی ،در ک فعلی از خود- سازماندهی غشاء سلولی برای تشکیل دومین­های گذرا و نقش داربست پروتیینی در سازماندهی غشاء سلولی اشاره می­کنیم. ما درباره­ی دومین­های پیام رسانی به عنوان یک نمونه­ی مهم از تشکیل غشاء گذرا بحث می­کنیم . ما با اشاره به محدودیت­های موجود برای اندازه­گیری سازماندهی غشاء در سلولهای زنده و قدم­هایی که برای پیشرفت این رشته لازم هستند نتیجه گیری خواهیم کرد.

**مقدمه: چالش­های پیش روی مطالعه­ی سازماندهی غشاء سلولی**

درک سازماندهی غشاء پلاسمایی تقریبا به مدت نیم قرن یکی از اهداف اصلی زیست شناسی سلولی و بیوفیزیک بوده است. علی­رغم شناسایی اکثر واحدهای ساختمانی اصلی (لیپیدها، پروتیین­ها و قندها) و بیشتر اصول سازماندهی، ما درک کافی از چگونگی میانکنش­های مولکولی بین اجزاء غشاء و جورشدن آن با کورتکس سلول و ایجاد ساختار و عملکرد در غشاء های سلولی نداریم . چندین دلیل برای خلا آگاهی وجود دارد: اول اینکه، مقیاس­طول مربوط به تشکیل سیستم غشاء- اسکلت سلولی خیلی کوچک است به طوری که با میکروسکوپ نوری دارای قدرت تفکیک محدود قابل حل نیست و ماهیت گذرا بودن آنها گرفتن تصویر مستقیم با استفاده از میکروسکوپ دارای رزولوشن بالا را پیچیده می­کند. دوم اینکه ترکیب مولکولی غشاء سلول بسیار پیچیده است( بیش از 500 گونه­ی مختلف لیپید، بیش از یکهزار گونه­ی قندی و بیش از 400 پروتیین غشایی.). برخلاف پرونیین­ها، ما روشی برای تشخیص بسیاری از گونه­های درونی قندها و لیپیدها در شرایط سلول زنده نداریم . بنابراین، ما اطلاعات گسترده­ی مولکولی برای بسیاری از اجزاء تشکیل دهنده­ی غشاء سلولی نداریم . سوم اینکه، سلولهای زنده از نامتعادل هستند و فراینده­های ناشی از انرژی به طور مداوم انجام شده و سیستم را بازآرایی می­کنند. این فرایندهای فعال، نقل و انتقالات غشایی و متابولیسم و پلیمریزاسیون و انقباض موتوری کورتکس سلول را درگیر می­کند. چگونگی جور شدن این فرایندها با ترکیبات و ساختار غشاء سلولی مطلبی است درک جزئی در مورد آن وجود دارد. اخیرا، شبیه سازی­های دینامیک مولکولی غشاء­ها برای پیش بینی رفتار پایین به بالای غشاء در مقیاس مربوط به تشکیل غشاء خیلی کوچک و کوتاه هستند، این مقیاس حداقل یک میکرومتر و یک ثانیه است. همه­ی این حقایق، اندازه­گیری مستقیم بسیاری از فرایندها مربوط به غشاء سلولی و بیان آگاهی­های به دست آمده از سیستم های مدل حداقل لیپیدها و یا مدلهای MD برای غشاء سلولهای سالم را با چالش مواجه می­کند.

اکنون، ما به این نتیجه رسیده­ایم که اندیکاتورهای قدرتمندی برای شناسایی اجزاء غشاء سلول وجود دارد. ما این استدلال­ها را به صورت سلسله مراتبی ارائه میکنیم که با پیچیدگی میانکنش­های مولکولی و خود- سازماندهی (وضعیت پایه) غشاء پلاسمایی شروع میکنیم و به تشکیل دومین­های پیام رسان گذرا و دومین­های پایدارتر و بزرگتر در زمینه­ی عملکردهای سلول می­رسیم .

**خود سازماندهی غشاءهای ساده و پیچیده**

سلولها از مولکول­هایی در مقیاس میکروسکوپیک تشکیل می­شوند تا امکان کنترل فضا-زمانی واکنش­های بیوشیمیایی فراهم شود. اندامک­های سلولی به وسیله­ی غشاءهای لیپیدی اختصاصی از سیتوپلاسم جدا میشوند این غشاء ها بدیهی ترین شکل تشکیل شدن است. با این وحود، به دلیل ماهیت دو بعدی (2D) و سیال بودنشان ، غشاء ها خودشان ساختارهای ایده­الی برای سازماندهی و کنترل واکنش­های بیوشیمیایی هستند. در حقیقت، بسیاری از فرایندهای مهم سلولی مانند پیام رسانی، دریافت پیام ، تبدیل انرژی و متابولیسم در غشاء ها اتفاق می­افتد. کاهش ساده­ی ابعاد متصل به غشاء های دو بعدی منجر به افزایش موثر در غلظت شده و در نتیجه سرعت واکنش­ها را افزایش میدهد و به عنوان سوئیچی برای کنترل برخی از واکنش­های پیام رسانی سلولی عمل می­کند. جهت گیری مطلوب مولکول­های متصل شونده به غشاء میتواند از طریق بلوکه کردن و یا در معرض قرار دادن جایگاه های واکنش ، واکنش پذیری را افزایش دهد. علاوه بر این قضیه­ی عود Pólya تاکید می­کند که انتشار دو بعدی تمام سطح را می­پوشاند.

علاوه بر این تفاوت­های بدیهی بین سیستم های انتشار واکنش در دو و سه بعد ، غشاء های زیستی کیفیت­های بیشتری را برای انجام و کنترل واکنش­ها فراهم میکند. گردهمایی غشاء ها با واکنش­های هیدروفوبیک لیپیدها و بدون نیاز به میانکنش­های بین اجزاء همسایه انجام میشود. بسته به ترکیب لیپید ساختار دولایه میتواند به شکل جامد، شبه مایع منظم و یا شبه مایع نامنظم باشد. در غشاء های چند جزئی حتی پیوندهای ضعیف بین اجزاء (بار، تمایل به پیوند هیدروژنی و غیره) میتواند منجر به تفکیک اجزاء و ایجاد دومین­هایی با ترکیب اختصاصی شود. علاوه براین ، تطبیق خصوصیات مولکولی اتصال اجزاء غشاء سلولی با ویژگی های موضعی غشاء مانند ضخامت، انحناء، و بار سطحی دسته بندی مولکول­ها در غشاء­ها را بیشتر تخت تاثیر قرار می­دهد. این ویژگی­های خود سازماندهی غشاء های لیپیدی در سیستمهای مدل سازی ساده­ی غشاء کار شده اند و همه­ی این اصول برای عملکرد غشاء سلول مهم ارزیابی شدهاند. غشاء سلولی یک ترکیب لیپیدی پیچیده با انواعی از از پروتیین­هاست به طوری که یک سوم از ژن­های ما پروتیین­های غشایی را کد می­کنند. بسته به نوع سلول، و روش اندازه­گیری، این پروتیین ها 23 تا 40 درصد از سطح پروتیین را اشغال می­کنند.

با محتوی بالای کلسترول و پروتیین، وضعیت کلی غشاء سلولی با میزان لیپید نسبتا بالا به صورت مایع است و در سلولهای غیرقطبی توزیع پروتیین­های غشایی مانند گیرنده­ها و تریسرهای چربی فلورسنت در مقیاسی بیش از 200 نانومتر همگن به نظر می­رسند. با این وجود، اندازه­گیری دقیق با رزولوشن بالای لیپید فلورسنت و ردیاب­های پروتیینی در سلولهای زنده ویژگی­های انتشار ناهمسان یا کلاستر شدن در مقیاس پایین تر از 200 نانومتر را نشان داده است، که حبس گذرای اجزاء غشاء در اجزاء اسکلت سلولی و دومین­های لیپید- پروتیین را نشان می­دهد. شناسایی دومین­های لیپید- پروتیینی در مقیاس نانو در سلول­های سالم از اندازه­گیریهای غیرمستقیم بدست می­آید زیرا این دومین­ها کوچک و پویا هستند و ساختار آنها به سادگی با فیکساسیون تغییر میکند که برای تکنیک­های با رزولوشن بالا ضروری است. اندازه­گیری منتشر پروتیین­ها و یا لیپیدهای در حال واکنش با نانوکلاسترها نیازمند رزولوشن فضا-زمان بالای است زیرا زمان باقی ماندن مولکول­های واحد در نانودومین­ها احتمالا کمتر از 100 میلی ثانیه و اندازه­ی دومین­ها کوچکتر از 60 نانومتر است. رزونانس انتقال انرژی فوستر (FRET) نیز برای تعیین اینکه آیا پروتیینی با نانودومین­ها میانکنش دارد یا نه استفاده شده است. از آنجاییکه، تعدا کمی پروتیین در داخل هر کلاستر وجود دارد، FRET یکدست نسبت به FRET دورنگ نتایج ثابت تری را ایجاد می­کند. زمان کم میانکنش مولکول­هایی که با نانودومین­ها در حال انتشار هستند نشان میدهد که انرژیهاس پیوند خیلی بیشتر از انرژی گرمایی kBT نیست. از آنجاییکه ما تنها میتوانیم میانکنش­های مولکلوهای واحد با نانودومین­ها را اندازه­گیری کنیم (اما نمیتوانیم از دومین­ها تصویر برداری کنیم) در حال حاضر ما هیچ اطلاعاتی در خصوص طول عمر و پویایی شکل دومین­ها نداریم .

نانودومین­ها یا ناهمگنی های غشاء سلولی میتواند با دومین­های بزرگتر ادغام شود. اتصال عرضی اجزاء پروتیینی یا لیپیدی با توکسین­های مالتی والانت یا آنتی بادی­ها میکرودومین­ها را در غشاء سلولی القا میکند که یاد آور دومین­های شبه مایع منظم و شبه مایع نامنظم در غشاءهای مدل است. دومین­های مشابه در وزیکول­های استخراج شده از غشاء پلاسمایی که در دمای پایین­تر از دمای اتاق سرد شده­اند مشاهده می­شود. این آزمایشات نشان می­دهند که ترکیب پیچیده­ی غشاء پلاسمایی طوری تکامل یافته تا به یک وضعیت گذار نزدیک شود که درآن برخی از اجزاء از نظر فضا – زمانی از هم جدا هستند. تنوع مایع مشاهده شده در غشاء پلاسمایی میتئواند یکی از راههای نزدیک شدن به این نقطه باشد و جلوگیری از جدا شدن خودبه خوی به این دلیل است که لیپیدهای مختلف انرژی سطح را کاهش میدهند و به عنوان بافر عمل می­کنند. علاوه بر این لنگراندازی برخی از اجزاء غشاء سلول به اسکلت سلولی ویا اتصال به ماتریکس خارج سلولی از تفکیک جلوگیری می­کند. در زیر با جزئیات بیشتری در خصوص این پدیده بحث خواهیم کرد.

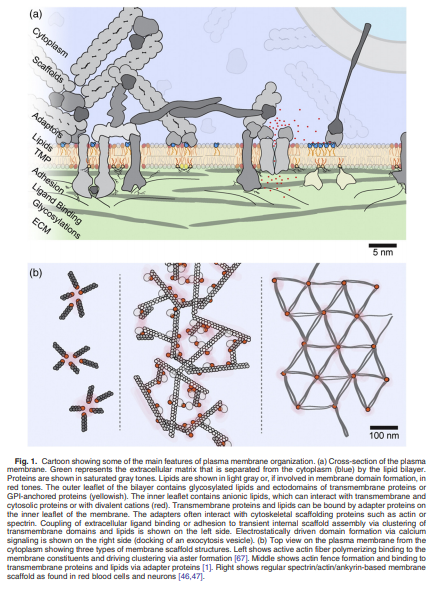
یکی دیگر از جنبه­های ساختاری مهم غشاهای سلولی نامتقارن بودن آنهاست. بیشتر اسفنگولیپیدها و گانگلیوزیدها در لایه­ی خارجی غشاء ولی بیشتر لیپیدهای دارای بار منفی مانند فسفاتیدیل سرین و گونه­های فسفاتیدل اینوزیتول (PIPS) در لایه­ی داخلی یافت میشوند. این عدم تقارن به صورت فعال و توسط آنزیم فلیپاز و پروتیین­های انتقال دهنده­ی لیپید ایجاد و حفظ میشود. در لایه­ی داخلی کلاستر لیپید پروتیین با میانجیگری میانکنش­های الکترواستاتیک بین کاتیون­های دو طرفیتی یا موتیف های پروتیینی پلی بازیک انجام میشود که اغلب در نزدیکی سطح سیتوپلاسمی غشاء و گروهای سر لیپیدی دارای بار منفی یافت می­شوند. این مکانیسم کلاستری شدن همراه با تبدیل سریع وضعیت فسفریلاسیون PIP به وسیله­ی آنزیم ها یک لایه­ی تنظیم کننده را برای تشکیل کلاسترهای غشاء پیشنهاد می­کند.

روی هم رفته، خصوصیات ترمودینامیکی غشاء ها امکان تفکیک و دسته بندی خود به خودی پروتیین­ها و لیپیدها را فراهم میکند. در غشاء های سلولی این خصوصیات باید از نظر فضا-زمان کنترل شود تا عملکرد ایجاد شود. یکی از فرضیات جالب این است که ترکیب پیچیده­ی غشاء سلولی همراه با کورتکس سلول یک سیال خوب ترکیب شده را ایجاد می­کند که میتواند در آشفتگی­های کوچک مانند اتصال لیگاند به کلاسترهای عملکردی بازآرایی کند. علاوه بر این تبادلات آنزیمی گونه­های پلی­آنیونیک PIP در لایه­ی سیتوپلاسمی غشاء یک مکانیسم نیرومندی را برای کنترل تشکیل کلاسترها به وسیله­ی میانکنش­های الکترواستاتیکی اختصاصی فراهم می­کند. هر دو مکانیسم برای پیام رسانی در غشاء پلاسمایی مهم هستند. در حقیقت جور شدن بازآرایی محلی القاء شده با اتصال لیگاند و turnover موضعی PIPS برای ارسال پیام های اتصال لیگاند برای گیرنده­های غیر ترانس متصل به GPI (گلیکوزل فسفاتیدیل ایتوزیتول) ضروری است.

**نقش داربست­ها در سازماندهی غشاء**

غشاء پلاسمایی یوکاریوتی به وسیله­ی انواعی از پروتیین­های آداپتور به کورتکس سلول متصل می­شود که به پروتیین­های ممبران یا لیپیدهای لایه­ی داخلی غشاء مانند فسفاتدیل سرین و فسفاتدیل اینوزیتول اتصال دارند. نوع و الگوی لنگراندازی در غشاء پلاسمایی بین انواع سلولها متغییر است و حتی در درون یک سلول واحد، غشاء پلاسمایی اغلب به دومین های ممبران و با یک ساختار کورتکس ویژه تمایز پیدامی­کند. میانکنش کورتکس اکتومیوزین با غشاء پلاسمایی ابتدا مکانیک و مورفولوژی سلول را تنظیم می­کند. یکی از شناخته شده ترین داربست­های غشایی غشاء پلاسمایی اریتروسیت است که به یک شبکه­ی شش گوش به خزانه­های 100 نانومتری تفکیک می­شود. این شبکه از تترامرهای اسپکترین تشکیل شده است که با فیلامنت­های کوتاه اکتین دارای اتصال عرضی هستند. فیلامنت­های اسپکترین به وسیله­ی پروتیین­ آداپتور آنکرین به پروتیین­های گذرنده از عرض غشاء متصل می­شوند. اخیرا با استفاده از یک روش میکروسکوپی با وضوح بالا یک ساختار اسکلت غشایی مرتبط در سلولهای آکسون کشف شده است. مانند گلبول های قرمز، داربست اکتین –اسپکترین غشاء پلاسمایی آکسونی را نیز در برگرفته است. با این وجود ، برخلاف گلبولهای قرمز خون، اکتین در اطراف لوله­ی آکسونی حلقه تشکیل می­دهد. حلقه­های اکتین به صورت دوره­ای حدود 180نانومتر به وسیله­ی تترامرهای اسپکترین جدا می­شوند که با آنکرین به کانال­های یونی متصل می­شوند. در هردو مورد داربست غشایی نیروی مکانیکی ایجاد می­کند. در آکسیون ، داربست احتمالا توزیع و حضور پروتیین­ها و لیپیدهای غشایی را نیز سازماندهی می­کند. در برآمدگی آکسونی، سد بین آکسون و غشاء پیکری (داربست­های مشابهی که به کانال­های سدیم لنگر می­اندازند. ) به اندازه­ی کافی ضخیم هستند که از انتشار سایر پروتیین­ها و کلاسترها جلوگیری کرده و به لیپیدهای واحد اجازه­ی عبور میدهند.

در کل، دومین­های غشایی قطبیده در بسیاری از انواع سلولها به وسیله­ی انواع خاصی از داربست­های غشایی سازمان می­یابند. شکل 1 یک ساختار عمومی از داربست غشایی را نشان میدهد. این ساختار میتواند به لایه­های عملکردی تقسیم شود. با شروع از بخش خارج سلولی ، اکتودومین­های گیرنده­های گذرنده از عرض غشاء با افکتورهای متحرک و ساختارهای ثابت میانکنش می­کنند. چگونگی اتصال لیگاند گذرنده از عرض غشاء برای القای به خدمت گرفتن آداپتور کاملا معلوم نیست.اغلب، اتصال لیگاند با دایمریزاسیون گیرنده همراه است. در طرف داخل سلولی، پروتیین­های اداپتور موتیف­های پپتیدی را در دنباله­های سیتوپلاسمی گیرنده­ها شناسایی می­کنند. بیشتر پروتیین­های آداپتور دارای تعدادی میانکنش­های پروتیین-پروتیین هستند که منجر به منزوی شدن بقیه­ی پروتیین­های ترانس ممبران، سایر داربست ها ، مولکول­های پیام رسان و فیلامنتهای اکتین می­شود. علاوه براین مولکول­های داربست کننده میتوانند به طور مستقیم از طریق موتیف های متصل شونده به لیپید با پروتیین میانکنش کنند. وابستگی متقابل فضا-زمانی این شبکه­ی میانکنشی شامل بازخوردهای مثبت و منفی است از طریق تعیین هویت مولکولی و ساختار و عملکرد دومین ممبران مربوطه است. به ویژه اینکه این گردهمایی­ها بوسیله­ی نانوکلاسترهای لیپیدی حاوی کلسترول، PIP2 و یا هر دو ماجول می­شود. چنین کلاسترهایی فقط به اسکلت سلولی متصل نمی­شوند بلکه پروتیین­های پلیمریزاسیون اکتین را جذب و ساختار اسکلت سلولی را ماجوله می­کند. درگیر کردن این شبکه­های میانکنشی در فضا و زمان نیازمند یک اتصال سیستماتیکی از روش­های آزمایشگاهی و مدل سازی جدید است. نمونه­های داربست­های غشایی مهم اتصالات ماتریکس سلولی( چسبندگی کانونی) اتصالات سول-سلول (ادهرنس، محکم و اتصالات عصبی و دسموزوم­ها) و برآمدگی­های غشایی قطبیده (لاملی پودیا، آکسون، border,brush و پرزهای سلولهای اپیتلیال) هستند.



اینکه داربست­های غشایی چگونه می­توانند بر تفکیک پروتیین­ها و لیپیدهای غشایی در مقیاس نانو تاثیر بگدارند در مطالعه­ی منی توسط گروه Kusumi's نشان داده شده است. ردیابی تک ذره­ای سریع پروتیین­های ترانس ممبران و آنالوگ­های لیپیدهای لایه­ی خارجی غشاء یک الگوی انتشار محدود در مقیاس فضایی محدود در زیر حد پراش میکروسکوپ نوری نشان داد. پروتیین­ها و لیپیدهای غشاء به صورت موضعی سریع حرکت میکنند( کمتر از 60 تا 200 نانومتر) اما در هر بخش قبل از جهیدن به بخش همسایه بیش از یک میلی ثانیه باقی می­مانند. Aki Kusumi این الگوی انتشار را انتشار هاپ نامید و پیشنهاد کرد که فیلامنت­های اکتین متصل شونده به غشاء که در سطح سیتوپلاسمی غشاء قرار دارند ، به عنوان مرزهایی برای پروتیین­های ترانس ممبران در حال انتشار عمل می­کنند. علاوه بر این پروتیین­های غشایی که که اسکلت سلولی را به غشاء سلولی لنگر می­کنند به عنوان موانعی درون صفحه­ی غشاء عمل می­کنند که انتشار لیپیدها حتی در لایه­ی خارجی را نیز محدود می­کند. این یافته که بسیاری از پروتیین ها می­توانند بین وضعیت متصل به اکتین یا غیر متصل به اکتین تغییر کنند یک مدل جامعی را ایجاد می­کند که بسیاری از این دینامیک­های غشایی مشاهده شده را توضیح می­دهد.

شبیه­سازی­ها و آزمایشات اخیر نشان می­دهد که داربست­های غشایی میتواند بر سازماندهی لیپیدها اثر نیرومندی داشته باشد که بسیار فراتر از موانع انتشار منفعل است. در غشاءهای پیچیده که به فا گذر نزدیک هستند ، پین گذاری اجزاء سازنده­ی غشاء با یک داربست می­تواند دومین­های لیپید را تحریک یا سرکوب کند که به دما و الگوی پین گذاری بستگی دارد. شبیه­سازی­های ساده­ی مدل دوبعدی آیزینگ رفتار انتقال فاز و غشاءهای مدل سه تایی و حتی وزیکول­های پیچیده­ی مشتق شده از سلول را نشان داده است. شبیه­سازی­های پیشرفته تر پیش بینی کرده اند که پین گذاری فضا زمان اجزاء تشکیل دهنده­ی غشاء منجر به از دست رفتن گسترده و حتی کامل انتقال فاز خواهد شد. این مکانیزم از ماده چگال و فیزیک آماری به عنوان اختلال در فرو نشستن شناخته شده است و در مواد شیشه مانند و انتقال فرومغناطیس مطالعه شده است. پیش بینی­های in-silico برای غشاءهای لیپیدی اخیرا در بسیاری از روش­های آزمایشگاهی (in vitro) اثبات شده است. با استفاده از چسبندگی به عنوان منبع پین گذاری لیپید در وزیکول­های تک سلولی غول پیکر در تفکیک فاز ، Zhao و همکاراراان دادن که در دمای بالاتر از دمای انتقال فاز دومین­های لیپیدی در محل­های چسبندگی پایدار می­شوند. Honigmann و همکارانش از یک کورتکس مصنوعی استفاده کردد که به یک غشاء حمایت شده با لنگرهای لیپیدی متصل بود. مطابق شبیه سازی­ها، پین گذاری با meshwork های اکتین متراکم از تفکیک فاز بزرگ مقیاس در دمای پایین جلوگیری کرده و دومین­های لیپید را در دماهای بالا تثبیت می­کند. با استفاده از روشی مشابه ، Arumugam و همکارانش به نتیجه­ی مشابهی درمورد GUVs رسیدند.

کار incilico و in vitro به وضوح نشان نشان میدهد که یک مکانیسم نامظلوب خاموش شده میتواند برای توصیف وضعیت فیزیولوژیک غشاءهای سلولی مهم باشد. این مشاهدات به وسیله­ی مشاهدات تفکیک فاز مقیاس وسیع وزیک.ل­های مشتق شده از غشاء پلاسمایی که برخی از پروتیین ها و لیپیدهای غشاء را دارد ولی فاقد ارتباط با کورتکس سلول است حمایت می­شود. این قضیه نشان میدهد که در سلول­های سالم ، تفکیک در مقیاس وسیع به وسیله­ی کورتکس ممانعت میشود. در راستای این پیش بینی­ها ،چندین مطالعه ی گزارش شده در مورد ناهمگنی های غشاء و رفت­­­های لیپیدی به این نتیجه رسید که دپلیمریزاسیون اکتین منجر به ایجاد غشاء همگن در دمای فیزیولوژیک می­شود.

علاوه بر این، کورتکس به طور پیوسته با دپلیمریزاسیون اکتین و فیبرهای میکروتوبولی و حرکات مبتنی بر موتور پروتیین­ها بازآرایی می­شود. Satyajit Mayor اخیرا مدلی را پیشنهاد کرده است که نقش رشته­ی کوتاه اکتین متحرک برای ایجاد دومین­های لیپیدی trans-leaflet را تعیین می­کند. رشته­های کوتاه اکتین که با پروتیین­های آداپتور به لیپید فسفاتیدیل سرین حاوی زنجیره­های آسیل بلند و اشباع متصل می­شود میتواند باعث القای کلاسترهای پروتیین لنگرشده با GPI بر روی لایه­ی خارجی غشاء پلاسمایی شود.

**تشکیل دومین­های پیام رسانی**

در طول پیام رسانی سلولی اطلاعات باید در طول غشاء انتقال داده شود تا پاسخ سلولی ایجاد گردد. ینکه چگونه پیام هایی از یک گیرنده­­ی واحد با هم ترکیب می­شوند تا تصمیم­های سلولی کلی ایجاد کنند هنوز کاملا درک نشده است. مثال­هایی از فرایندهای پیام رسانی که به خوبی مطالعه شذه اند نشان میدهد که مراحل تکثیر برای ترجمه­ی اتفاقات فعال سازی یک گیرنده­ی واحد به تنظیمات رونویسی لازم هستند. با توجه پیشرفتهای فسفوپروتئومیکس، این موضوع در حال روشن شدن است که دیدگاه قدیمی که با شمای ساده­ای از واکنش­های خطی آبشار پیام رسانی را توصیف می­کرد باید با مدل­های متغییر جایگزین شود که در آنها تصمیم­گیری­ها نتیجه­ی میانکنش­های پیچیده­ای در شبکه­های در هم تنیده است. علاوه بر این ، در سال­های اخیر، روشن شده است که بسیاری از فرایند­های پایین­دست در آبشار پیام رسانی بعد از فعال سازی گیرنده در حقیقت به طور مستقیم در محل فعال سازی گیرنده جایگیری می­کند. این کار از طریق تشکیل کلاسترهای پیام رسانی به دست میآید که حاوی گیرنده­های فعال شده­ی چندگانه و مولکول­های داربستی است که به صورت گذرا به خدمت گرفته می­شود و کینازها و سایر پروتیین­های پیام رسانی باهم ترکیب می­کند. کلاستر کل با بازآرایی اکتین-کورتکس پایدار شده و در نهایت با اندوسیتوزیس غیرفعال می­گردد. برایی بردن به اینکه کدام مکانیسم در حقیقت تشکیل و پایان این کلاسترهای پیام رسانی را به پیش می­برد باید به اصول سازماندهی غشاء و میانکنش آن با کورتکس برگشت.

بسیاری از مکانیسم های سازماندهی غشاء که در پاراگراف­های قبلی معرفی شدند در تشکیل دومین­های پیام رسانی دخیل هستند. از میان انواع مخالف گیرنده­های قرار گرفته در غشاء پلاسمایی ، برخی از گیرنده­ها ممکن است به صورت واحدهای مستقل عمل­کنند مانند کانال­های یونی ولتاژی، و برخی از گیرنده­های جور شده با پروتیین­های G. با این وجود برخی از گیرنده­ها از جمله کینازهای تیروزین، نیازمند دیمریزاسیون القا شده با لیگاند برای انتقال پیام هستند. به نظر می­رسد که دیمریزاسیون و مرحله­ی فسفریلاسیون بعد از آن تحت تاثیر محیط موضعی غشاء قرار می­گیرد. گیرنده­های متصل به GPI ،که تنها به لایه­ی خارجی غشاء متصل هستند به نظر میرسد که با کلاستر کردن و تشکل رفت های لیپیدی پیام رسانی می­کنند که کلاستر را از طریق جفت کردن دولایه از لایه­ی خارجی به لایه­ی اخلی منتقل می­کند.

در کل، کلاستر شدن گیرنده­ی فعال شده راهی را برای بهینه کردن پیام رسانی به نیازهای خاص است: 1) پیام رسانی تعاونی گیرنده­های آشفته را به یک سیستم متمرکز تبدیل می­کنند. II) تصال پی در پی یک لیگاند ضعیف به یک دسته از گیرنده ها باعث تکثیر و افزایش حساسیت می­شود III) کلاستر شدن گذرا امکان سوئیچینگ بین پیام های موضعی و پوشش فضای بیشتر را فراهم می­کند. عملکردهای ویژه اندازه، دینامیک و سازماندهی کلاسترها را تکامل بخشیده است. مدل­سازی نشان داد که کلاستر 4 تا 8 پروتیین تعاونی به صورت بهینه یک سیگنال را با تمرکز بالا با گیرنده های آشفته از عرض غشاء و با حداقل انرژی فعال سازی عبور میدهند. کلاستر پروتیین­های CD59 لنگر شده به GPI با جمع شدن 3 تا 9 پروتیین CD59 لنگر شده به GPI یک کلاستر واحد را تشکیل میدهند در حالیکه کلاسترهای GTPase Ras دارای حدودا 6 مولکول هستند. کلاسترهای کوچک برای افزایش تمرکز مناسب تر هستند زیرا ، جمع شدن و باز شدن سریع امکان انتشار سریع برای پوشش فضایی گسترده را فراهم می­کند.

همانطور که در بالا بحث شد، تغییرات کوچک در ماینکنش­های بین مولکولی به راحتی منجر به تفکیک موضعی اجزاء غشاء و تشکیل نانودومین­ها می­شود. برای تشکیل نانودومین­های پیام رسانی گذرا ، برخی از ویژگی­ها مولکول­های پیام رسان ممکن است با رویداد پیام رسانی مدوله شود. برای مثال شیب دومین­های گذرنده از عرض غشاء برای برخی از کانال­های یونی و گیرنده در طی فعال سازی تغییر میکند که نشان میدهد که آنها اکنون ضخامت غشایی متفاوتی را ترجیح میدهند. همچنین ، سایر فرایندهای فعال سازی مانند فسفریلاسیون یا پلیمریزاسیون، بار یا سطح آبگریزی پروتین­های غشاء را تغییر میدهند و به این ترتیب تمایل آنها به محیط های موضعی خاص را تحت تاثیر قرار می­دهند. این مکانیسم­ها می­تواند شروع تشکیل کلاسترهایگیرنده های فعال شده را به پیش ببرد. علاوه بر این پلیمریزاسیون فعال با مصرف انرژی و کینتیک­های واکنش موضوع مطالعات اخیر بوده است. همکاری بین گروه های Ron Vale و Michael Rosen اخیرا نشان داده است که چگونه فسفریلاسیون گیرنده­ی سلول-T با پروتیین­های پایین دست شناسایی شده و با کمک آداپتورهای مالتی والانت و پروتیین های داربستی و اسکلت سلولی اکتین به کلاستر پیام رسان تبدیل می­شود. داربست کننده ها و اداپتورها به مولکول­های موضعی و گذرا مانند کیناز و سایر مولکول­های پیام رسان امکان منزوی شدن را می­دهد. جالب توجه است که گردهمایی کلاسترهای پیام رسان با پروتیین­های داربست به نظر میرسد که بر جدا سازی فاز مایع پروتیین­های داربستی چندظرفیتی متکی باشند که امکان تکثیر و تشکیل محیط واکنش ویژه را فراهم کرده و از نظر فرضی بسیار شبیه به جیزی است که برای جداسازی فازها برای لیپیدها و پروتیین­های درون غشاء پیشنهاد شده است. بالانر از این، جریان مولکولی ناشی از پروتیین های موتوری برای پلت فرمهای ریز پیام رسانی مانند سیناپس ایمیونولوژیکی ، و ممکن است حتی در دومین­های کوچکتر هم اتفاق بیافتد.

نقش لیپیدها در تشکیل کلاسترهای پیام رسانی در لایه­ی داخلی غشاء شناخته شده تر است، در اینجا کلاستری شدن بیشتر به وسیله­ی میانکنش­های الکترواستاتیکی بین کاتیون­های دو ظرفیتی یا موتیف­های پروتیینی پلی بازیک که اغلب در مجاورت بخش سیتوپلاسمی غشاء و گروهای لیپیدی دارای بار منفی یافت می­شوند. پیشنهاد شده است که یون­های دو ظرفیتی مانند شارش کلسیم در حین پیام رسانی میتواند این لیپیدهای باردار را گردهم آورد و لوپ­های فیدبک احتمالی بوجود آورد. مراحل مختلف فسفریلاسیون PIP میتواند به وسیله­ی دومین­های متصل شونده به لیپید مانند دومین همولوژی Pleckstrin ، دومین­های C2 و یا دومین­های PDZ به طور اختصاصی سازماندهیشود که برای مثال به عنوان آداپتورهای ردیاب اختصاصی جایگاه برای وزیکول­های سیناپسی در نورون یا به عنوان مدول های مختلف داربست­های پیام رسانی چند ظرفیتی عمل می­کنند این نانوکلاسترهای PIP2 ارتباط بین غشاء و اسکلت سلولی را قویتر کرده و به حرکت پیام از غشاء سلولی به سمت هسته کمک کند.

در سلولهای سالم ، رشد دومین، به وسیله­ی پین گذاری دومین­ها از طریق میانکنش­ها در زیر اسکلت سلولی محدود میشود ، مگر اینکه فرایند از بازآرایی فعال اسکلت سلولی استفاده کند. به تدریج اتفاق پیام رسانی مجبور به پایان رسیدن است و نانودومین­ها باید از هم جدا شوند. راه انداز این فرایند ناشناخته است و میتواند از اثرات فیدبک اتفاقات پایین دست باشد. با این وجود ، ساده ترین راه انداز میتواند اندازه­ی نانو دومین و هماهنگی ان با اسکلت سلولی کورتکسی باشد. قانون متداول برای حذف کمپلکس پیام رسانی فعال شده اندوسیتوز است. که میتواند با افزایش پلیمریزاسیون اکتین بر روی نانو دومین­های درحال رشد بر روی لایه­ی داخلی غشاء راه بیافتد.

**نتیجه­گیری**

بسیاری از فرایندهای سلولی مانند پیام رسانی، الحاق وزیکولها، جوانه زنی، تقسیم سلولی، چسبندگی سلولی، و قطبیت سلول نیازمند یک تفکیک فضایی-زمانی در اجزاء غشاء و اسکلت سلولی کورتکس در مقیاسی بین یک جفت مولکول تا یک میکرومتر است. درک این فرایند مهم در سطح مکانیکی نیازمند درک چگونگی خود- سازماندهی غشاء هاست. پیشرفت های اخیر در تکنیک­های اپتیک و اسپکتروسکوپیک به روشن شدن سازمان یابی غشاء در سلولهای زنده با رزولوشن فضایی-زمانی بالا کمک کرده است. این ابزارها به امکان میدهند تا پیش بینی های نظری بر اساس آزمایشات مدلی غشاء را در سلولهای زنده ارزیابی کنیم . با این وجود بسیاری از لیپیدهای درونی غشاء هنوز با روش­های فلورسنتی قابل تشخیص نیستند که دانش ما را در باره­ی سازمان یابی غشاء محدود می­کند. برای غلبه به این خلا نیاز به ایجاد روش­ها و ابزارهای پیشرفته­تری است . علاوه براین تعداد مکانیسم­ها، فرایندها، و اجزاء مولکولی درگیر در تعریف ساختار عملکردی غشاء سلولی در حال بزرگتر شدن است. بنابراین، ایجاد مدل­های چند مقیاسی برای ساختار غشاء سلولی برای پیوند دادن مقیاس خود سازماندهی مولکولی به مقیاس سلولی و بافتی مفید خواهد بود.



