راه‌های کنترل متابولیسم باکتری‌ها

(بخش اول)

دکتر رضا میرنژاد (دانشیار دانشگاه)، وهاب پیرانفر (کارشناس ارشد)

برای درک اعمال، دینامیک و درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌ها، فهمیدن نحوه کنترل متابولیسم آن‌ها ضروری است. در این مقاله به نحوه کنترل متابولیسم در باکتری‌ها اشاره می‌گردد.

کنترل متابولیسم باکتری‌ها

فعالیت و بیوسنتز آنزیم‌ها در باکتری‌ها از راه‌های مختلفی کنترل می‌شود؛ فعالیت آنزیمی[1] مستقیماً با کنترل پس‌نورد آلوستریک[2] تنظیم می‌گردد. این تنظیم که اغلب به دلیل تأثیر مهار آلوستریک یا تحریک آن سریعاً قابل‌رؤیت است را کنترل Fine می‌نامند. همچنین فعالیت آنزیمی با مکانیسم‌های کنترل استاندارد نظیر رقابتی، غیررقابتی و نارقابتی نیز کنترل می‌شود. سنتز آنزیم‌ها به‌وسیله کنترل در سطح نسخه‌برداری[3] یا ترجمه[4]، نیز تنظیم می‌گردد. کنترل در سطح نسخه‌برداری و ترجمه، به دلیل وقت‌گیر بودن مشاهده تأثیر کنترل، اغلب کنترل Coarse نامیده می‌شود، برای مثال اگر سنتز یک آنزیم متوقف شود، تأثیرات آن تا وقتی‌که مولکول‌های آنزیم از قبل ساخته‌شده وجود دارند، مشاهده نمی‌گردد. در ادامه به راه‌های مختلفی که توسط آن‌ها متابولیسم باکتری کنترل می‌شود اشاره‌ای کوتاه می‌گردد.

۱- کنترل آلوستریک فعالیت آنزیم

باکتری‌ها با تحریک یا مهار یک آنزیم، فعالیت آن را تنظیم می‌کنند.

کنترل مثبت[5]:

---

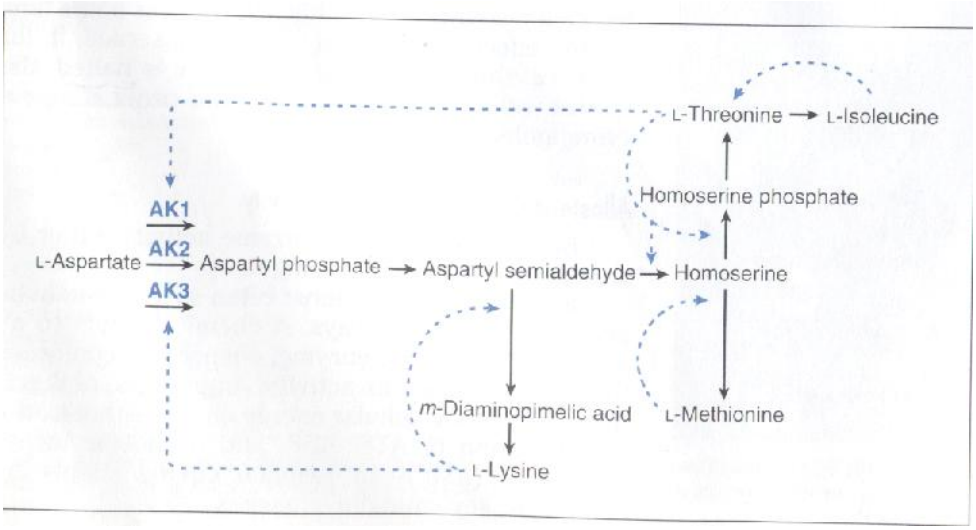
[1] -Enzyme activity
[2] -Feedback allosteric control
[3] -Transcriptiona control
[4] -Translatinal control
[5] -Positive control

این نوع کنترل در مسیرهای کاتابولیک و آمفی‌بولیک[1] اعمال می‌شود. پیوندهای شیمیایی در محل آلوستریک یک آنزیم، شکلش را تغییر می‌دهد و فعالیت آن بالا می‌رود، به‌عنوان مثال بار انرژی سلولی (یعنی غلظت ADP، ATP و AMP) معمولاً تهیه انرژی را با فعال کردن آنزیم‌های کلیدی کاتابولیک تنظیم می‌کند.

کنترل منفی:

کنترل منفی[2] اغلب در مسیرهای آنابولیکی و نقاط انشعابی بین مسیرهای کاتابولیک و آنابولیک اعمال می‌گردد. در چنین مسیرهایی تمام آنزیم‌ها به بازدارنده‌های فیدبکی حساس نیستند؛ در عوض آنزیم‌های مورد کنترل اغلب آن‌هایی هستند که در نقاط کلیدی طول مسیر مانند نقطهٔ آغاز و در نقاط انشعابی قرار دارند.

مثال جالب از کنترل آلوستریک فیدبکی در مورد آنزیم‌هایی مشاهده می‌شود که در مسیرهای تبدیل L- آسپارتات به لیزین، متیونین، تره‌اونین و ایزولوسین، عمل می‌نمایند (شکل ۱). در این مسیر، برای جلوگیری از هدر رفتن سوبسترا، لوپ‌های فیدبکی برای هر نقطه انشعاب وجود دارد، برای مثال وقتی متیونین کافی در اختیار اشریشیا کلی وجود دارد ممکن است هنوز به ایزولوسین نیاز داشته باشد، بنابراین متیونین به‌صورت فیدبک عمل کرده و اولین آنزیم در سنتز را بدون مهار آنزیم تبدیل هموسرین به ایزولوسین غیرفعال می‌کند. این راه نکتهٔ جالب دیگری دارد؛ توجه شود که سه نوع ایزوزیم آسپارتوکیناز وجود دارد: AK_1 به‌وسیله ترئونین مهار می‌شود، AK_3 با لیزین مهار می‌شود و AK_2 در فیدبک منفی عامل مهاری ندارد. این حالت مانع رویداد اگزوترف کاذب[3] می‌شود.



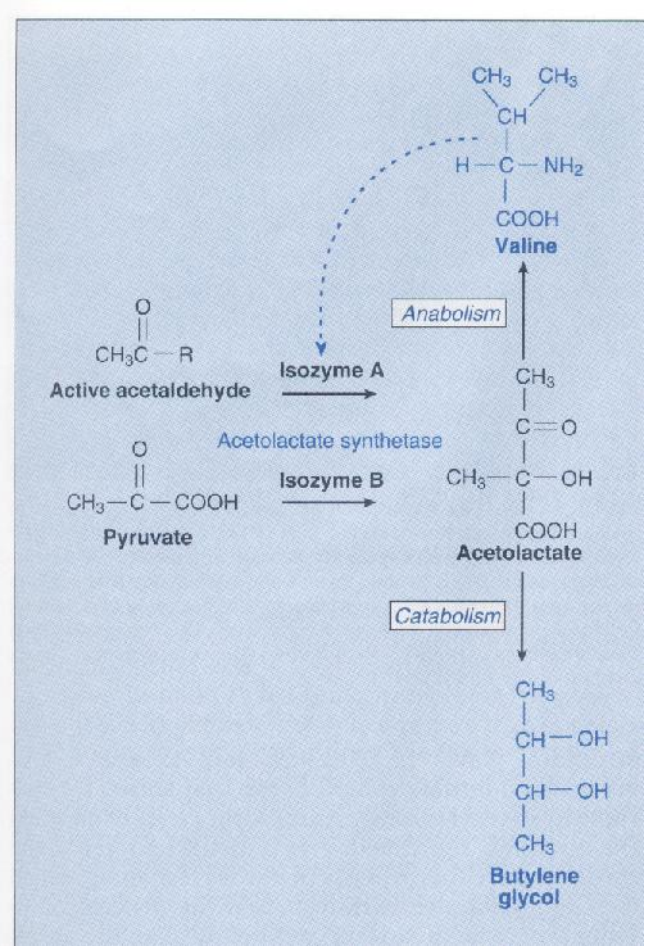
[1] -Amphibolic
[2] -Negative control
[3] -Pseudoauxotrophy

شکل ۱: کنترل آلوستریک تبدیل آنابولیکی L-آسپارتات به اسیدهای آمینه

۳ ایزوآنزیم آسپارتوکیناز (AK1, AK2, AK3) هر یک با سایت آلوستریک ویژه مانع اگزوترف کاذب می‌شوند. لوپ فیدبک به‌صورت خطوط نقطه‌چین نشان داده شده است. (برگرفته شده از Microbiology, T. Stuart Walker)

یادآوری می‌شود که اگزوتروفی به یک اسید آمینه، یک تغییر ژنتیکی بوده که در اثر از دست دادن توانایی ساختن یک اسید آمینه بخصوص، حاصل می‌شود. باکتری اگزوتروف درصورتی‌که اسید آمینه مزبور در محیط کشت باشد، بقا می‌یابد، این در حالی است که سوش‌های والد (پروتروف) خود می‌توانستند این اسید آمینه را بسازند. باکتری اگزوتروف کاذب، موقتاً توانایی ساخت اسید آمینه مورد احتیاج را درحالی‌که اسید آمینه دیگری به‌وفور وجود دارد، از دست می‌دهد.

مسیرهایی وجود دارد که در آن‌ها ایزوزیم‌های یک آنزیم، اهدافی برای کنترل متناقض می‌باشند. یکی از این مسیرها در شکل ۲ نشان داده شده است. در این مسیر استولاکتات سنتتاز، استالدئید فعال و پیرووات را تبدیل به استولاکتات می‌کند. در مرحله بعد این ترکیب یا برای سنتز والین (آنابولیسم) استفاده می‌شود یا از طریق تبدیل به بوتیلن گلیکول جهت تولید انرژی صرف می‌شود. در این مورد یک ایزوزیم وقتی‌که والین زیاد است، مهار شده درحالی‌که سایر ایزوزیم‌ها، به‌واسطه شرایط تخمیر تحریک می‌شوند.



شکل ۲: کنترل تبدیل استالدئید و پیرووات به استولاکتات به‌وسیله استولاکتات سنتتاز

فعالیت ایزوآنزیم A تحت کنترل منفی پس‌نورد آلوستریک می‌باشد (خطوط نقطه‌چین)، درحالی‌که فعالیت ایزوآنزیم B به‌وسیله شرایط تخمیر تحریک می‌شود (برگرفته شده از Microbiology, T. Stuart Walker)

۲- کنترل در سطح نسخه‌برداری سنتز آنزیم‌ها

آنزیم‌ها و پروتئین‌های انتقالی مورداستفاده در بیشتر مسیرهای متابولیکی باکتری‌ها، در سطح نسخه‌برداری کنترل می‌شوند. ژن‌های یک مسیر که به‌طور هماهنگ کنترل می‌شوند را اپرون می‌گویند. زمانی که کنترل چندین ژن، توسط یک ژن تنظیم‌کننده صورت می‌گیرد، به آن‌ها رگولون گفته می‌شود. باید توجه کرد که تمام آنزیم‌های باکتریایی تحت کنترل نسخه‌برداری نیستند. به آنزیم‌هایی که در چرخه رشد به میزان ثابتی سنتز می‌شوند و تحت کنترل نسخه‌برداری هماهنگ نیستند، آنزیم‌های ساختاری[1] گفته می‌شود.

[1] -Constitutive enzymes

اپرون‌های کنترل‌شده به‌صورت مثبت[1] (اغلب به آن‌ها اپرون‌های القائی گویند) معمولاً برای یک مسیر کاتابولیک رونویسی می‌شوند. وقتی هیچ سوبسترایی برای مسیر در دسترس نیست، یک مهارکننده (رپرسور) فعال به اپراتور وصل شده و رونویسی اپرون را متوقف می‌کند. وقتی سوبسترای مسیر به اندازهٔ کافی وجود دارد، القاکننده به‌منظور اتصال و غیرفعال کردن (رها کردن) رپرسور تولید می‌شود. بعد از رها شدن رپرسور از اپراتور اپرون، RNA پلی‌مراز وابسته به DNA می‌تواند اپرون را رونویسی نماید. اپرون‌های القایی قدرت تشخیص دارند، چراکه وقتی یک مسیر کاتابولیکی سوبسترا ندارد و احتیاجی به تولید آنزیم نیست، آنزیمی تولید نمی‌شود.

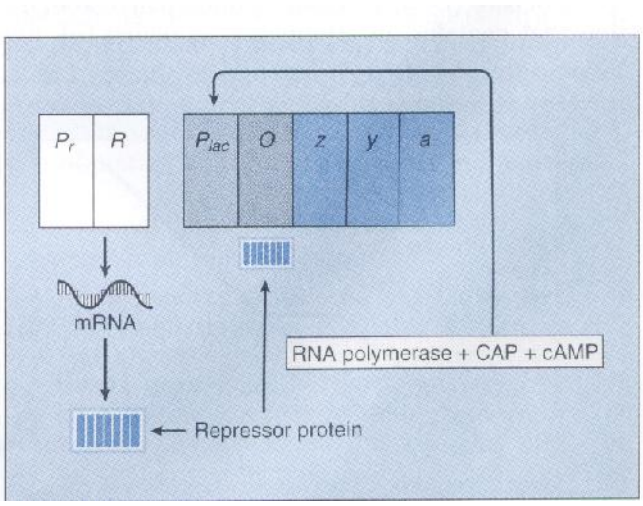
اپرون‌های کنترل‌شده به‌صورت منفی[2]، اهداف رپرسور پس‌نورد می‌باشند و معمولاً آنزیم‌های راه آنابولیکی (سنتزی) را کد می‌کنند. در شرایط معمول که یک باکتری نیاز به تولید محصولات اپرون دارد، یک رپرسور ساخته می‌شود، اما فقط وقتی آن فعال می‌شود که محصول نهایی مسیر به میزان بالائی رسیده باشد. در این هنگام محصول نهایی به رپرسور باند شده و آن را فعال می‌کند. محصول نهایی را به دلیل نقش آن یک کورپرسور[3] می‌نامند. اپرون تا زمانی که غلظت محصولات به میزان قابل‌توجهی کاهش نیافته باشد، بیان نمی‌شود. اپرون لاکتوز و تریپتوفان دو مثال از انواع کنترل در سطح نسخه‌برداری، در راه‌های متابولیکی و آنابولیکی می‌باشند.

اپرون لاکتوز

اپرون لاکتوز شناخته‌شده‌ترین اپرون کاتابولیکی می‌باشد که اغلب به lac اپرون معروف است. همان‌گونه در شکل ۳ نشان داده شده است، این اپرون دارای پنج ناحیهٔ مجزا می‌باشد: پروموتور lac (P_{lac})، اپراتور lac (o) و ژن‌های β گالاکتوزیداز (z)، لاکتوز پرمه‌آز (y) و ترانس استیلاز (a). اپرون lac به‌وسیله یک رپرسور منفرد به نام رپرسور lac (R) کنترل می‌شود. ژن کدکننده پروتئین رپرسور از اپرون جدا بوده و پروموتور مخصوص به خود (P_r) را دارد. این رپرسور، پروتئین تترامری می‌باشد که در یک شیار سه‌وجهی در ناحیهٔ o از اپرون lac قرار گرفته و از باز شدن زنجیرهٔ DNA در حین سنتز mRNA جلوگیری می‌کند. اپرون لاکتوز در فعالیت‌های کاتابولیکی و سرکوبگری دخالت دارد و اغلب یک شبکه تنظیم یکنواخت می‌باشد.

---

[1] -Positively controlled operons
[2] -Negatively controlled operons
[3] -Corepressor



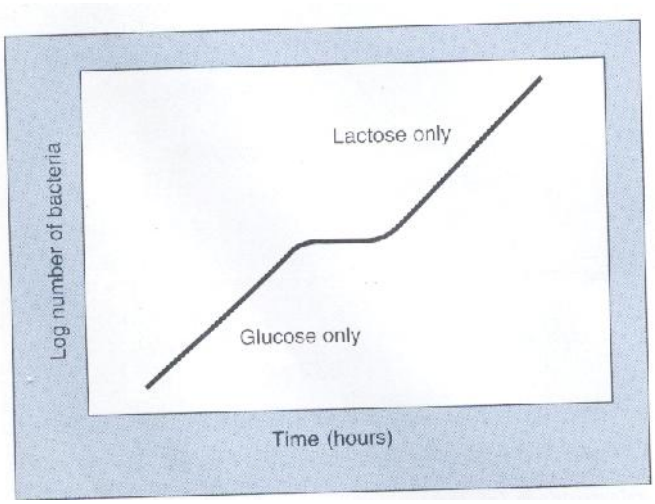
شکل ۳: اپرون لاکتوز

این اپرون حاوی پروموتور (Plac)، اپراتور (O Lac) و ژن‌هایی برای سنتز آنزیم‌های بتاگالاکتوزیداز (z)، پرمه‌آز لاکتوز(y) و ترانس استیلاز (a) است. این اپرون به‌وسیله یک مهارکننده (R) کنترل شده که پروموتور خاص خود را دارد (Pr). R نوعی پروتئین مهارکننده فعال را تولید می‌کند که به Plac اتصال می‌یابد، مگر اینکه شکل فضائی پروموتور در اثر اتصال به یک القاکننده تغییر کرده باشد. معمولاً RNA پلی‌مراز وابسته به DNA، mRNA را سنتز می‌کند که با آدنوزین منوفسفات حلقوی (cAMP)و پروتئین متصل به آن تشکیل کمپلکس (CAP) را می‌دهند و این کمپلکس سبب شروع رونویسی از اپراتور می‌شود (برگرفته شده از Microbiology, T. Stuart Walker)

(۱) فعال شدن اپرون: کنترل در سطح نسخه‌برداری چند مرحله دارد؛ وقتی هیچ لاکتوزی در محیط کشت نیست، RNA پلی‌مراز وابسته به DNA به یک پروتئین باندکننده به cAMP (CAP) و یک cAMP متصل شده و یک کمپلکس پلی‌مراز فعال را تشکیل می‌دهند. پلی‌مراز به پروموتور lac متصل شده و شروع به حرکت روی DNA می‌کند. وقتی پلی‌مراز به اپراتور رسید، رپرسور از باز شدن زنجیرهٔ DNA جلوگیری کرده و دیگر پلی‌مراز نمی‌تواند ادامه دهد و جدا می‌شود، لذا ژن‌های ساختمانی رونویسی نمی‌شوند. در این هنگام فقط یک یا دو مولکول لاکتوز پرمه‌آز در غشاء سیتوپلاسمی باکتری وجود دارد. وقتی لاکتوز به‌عنوان تنها قند به محیط اضافه می‌شود، چند مولکول وارد سلول می‌شوند و آلولاکتوز، یک القاکننده طبیعی را بوجود می‌آورند. باند شدن آلولاکتوز به رپرسور سبب تغییر شکل، کاهش افینیتی به DNA و غیرفعال شدن آن می‌گردد. در این زمان RNA پلی‌مراز می‌تواند از روی اپراتور بگذرد و ژن‌های ساختمانی را رونویسی نموده و در عرض چند دقیقه تعداد مولکول‌های بتاگالاکتوزیداز و لاکتوز پرمه‌آز را در باکتری ۱۰۰۰ برابر افزایش دهد.

دانشمندان چندین القاکننده که شبیه آلولاکتوز عمل می‌کنند و قادرند رپرسورها را غیرفعال کنند، پیدا کرده‌اند. بعضی از این آنالوگ‌ها نمی‌توانند متابولیزه شده و به‌عنوان القاگرهای رایگان[1] شناخته شده‌اند. بقیه توسط بتاگالاکتوزیداز شکسته می‌شوند، اما اثر القایی خیلی ضعیفی دارند. یک القاگر خوب لزوماً نمی‌تواند متابولیزه شود، اما در مقابل می‌تواند افینیتی رپرسور به DNA را کاهش دهد.

(۲) مهار کاتابولیکی[2]: دانشمندانی که مکانیسم‌های تنظیم ژنتیکی سنتز پروتئین را مطالعه می‌کنند، دریافته‌اند که وقتی اشریشیا کلی Lac^+ در محیطی حاوی دو قند (گلوکز و لاکتوز) رشد می‌کند، دارای منحنی رشد دی‌فازیک می‌باشد؛ یعنی همانطورکه در شکل ۴ نشان داده شده است، جرم باکتری برای مدتی افزایش یافته، ثابت باقی مانده و بعد دوباره شروع به افزایش می‌کند. این پدیده Diauxie نامیده می‌شود.



شکل ۴: مهار کاتابولیکی، در پدیدهٔ دی‌اکسی شرح داده شده است

اشریشیا کلی در محیطی که غلظت اکی‌مولار گلوکز و لاکتوز را دارد، ابتدا گلوکز را مصرف می‌کند و سپس وارد فاز Lag شده و مهار کاتابولیکی رخ می‌دهد. در مرحلهٔ بعد باکتری لاکتوز را متابولیزه می‌کند. انتقال گلوکز مانع خواندن اپرون لاکتوز از طریق کاهش میزان AMP حلقوی (cAMP) می‌شود (برگرفته شده از Microbiology, T. Stuart Walker)

بعدها نشان داده شد که باکتری‌ها در فاز اول رشد فقط گلوکز و در فاز دوم رشد فقط لاکتوز را متابولیزه می‌کنند. آنچه اتفاق می‌افتد این است که انتقال گلوکز به داخل باکتری، از طریق انتقال گروهی سبب پایین آمدن سطح cAMP می‌شود. در این

[1] -Gratuitous indncer
[2] -Catabolite repression

وضعیت cAMP کافی برای تشکیل کمپـــــــــــــلکس فعال RNA پلی‌مراز-CAP-cAMP جهت مهار نسـخه‌بـرداری اپـرون وجود ندارد، حتی درصورتی‌که لاکتوز کافی برای اتصال به رپرسور و رها کردن اپرون از رپرسـور وجـود داشـته باشـد، اپـرون بیـان نمی‌شود زیرا هیچ RNA پلی‌مراز وابسته به DNAیی قادر نیست به پروموتور لاکتوز متصل گردد، بنابراین فقط گلوکز اسـت کـه در فاز آغازین می‌تواند متابولیزه شود. وقتی آخرین مولکول گلوکز مصرف شد (سبب تأخیر در رشد می‌شود)، سطح cAMP شروع به بالا رفتن می‌کند. بالاخره کمپلکس RNA پلی‌مراز-CAP-cAMP تشکیل و به پروموتور لاکتوز متصل می‌شـود. ایـن اتصـال سبب برداشت اثر مهاری اپرون و رونویسی آن می‌شود. در طی دوره دوم رشد فقط لاکتوز متابولیزه می‌شود.

این پروسه مهار کاتابولیکی نامیده می‌شود، زیرا cAMP یک کاتابولیت بوده و نوسان آن عامل توانایی و عدم توانایی خوانده شـدن اپرون است. سیستم مهار و فعال‌سازی کاتابولیکی فقط یکی از چند شبکه تنظیم یکنواخت است که در مقالات بعدی بحث می‌شود.