การตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกของแบคทีเรียผ่านระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบ

Two-component signal transduction system: A responsive system for external stimuli in bacteria

จิตติมา เจริญพานิช

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

Jittima Charoenpanich*

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

บทคัดย่อ

บทความนี้กล่าวถึงระบบส่งสัญญาณที่แบคทีเรียใช้ในการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกผ่านโปรตีนสองชนิดในการจดจำสัญญาณ การส่งสัญญาณ และการกระตุ้นการแสดงออกของยีน โปรตีนรับรู้เป็นโปรตีนส่งสัญญาณหลักที่ทำหน้าที่โดยตรงในการจดจำกับสิ่งเร้าภายนอกในรูปแบบของลิแกนด์ การเข้าจับของลิแกนด์เหนี่ยวนำการเกิดปฏิกิริยาออโตฟอสโฟริเลชั่นของตัวโปรตีนรับรู้เองให้มีการถ่ายโอนหมู่ γ-ฟอสเฟตของ ATP ให้กับโปรตีนรับรู้และเคลื่อนย้ายสัญญาณฟอสโฟริลต่อให้โปรตีนควบคุมการตอบสนองเพื่อใช้กระตุ้นการถอดรหัสของยีนจำเพาะหรือโอเพรอนที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะสิ่งแวดล้อมนั้น

คำสำคัญ : ระบบสององค์ประกอบ, โปรตีนควบคุมการตอบสนอง, โปรตีนรับรู้

Abstract

Two-component signal transduction system, a responsive system for external stimuli in bacteria, is reviewed. The system combines a signal recognition, signal transduction, and gene activation in a two-protein system. The sensing protein is the primary signal transduction protein that interacts directly with an external ligand stimulus. Binding of the ligand induces an autophosphorylation reaction in which the γ-phosphate of ATP is transferred to the sensing protein. The signal information exists as a phosphoryl moiety poised to be transferred to a response regulator making a transcriptional activation of specific genes or operons that response to changing environmental conditions.

Keywords : Two-component system, Response regulator, Sensing protein

* E-mail: jittima@buu.ac.th

บทนำ

เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าแบคทีเรียเกือบทุกชนิดสามารถดัดแปลงเซลล์ให้เหมาะสมสำหรับการเจริญและเพิ่มจำนวนในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย จึงเป็นที่น่าสังเกตว่าเซลล์แบคทีเรียใช้ข้อมูลจากแหล่งใดในการปรับตัวให้สามารถเจริญในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเหล่านั้นได้ เพื่อตอบคำถามนี้นักชีวเคมีและอณูพันธุศาสตร์จึงสนใจศึกษาถึงกลไกการตอบสนองต่อสิ่งเร้าของแบคทีเรียมานานตั้งแต่ต้นทศวรรษ 1970s จากความจริงที่ว่าการมิวเทชัน (mutation) ของยีนใดยีนหนึ่งในสิ่งมีชีวิตอาจส่งผลกระทบต่อการควบคุมระบบชีวภาพในสิ่งมีชีวิตนั้นได้ ตัวอย่างเช่น การทดลองของ Perlman และ Pastan ในปีค.ศ. 1969 ที่พบว่าเมื่อทำการมิวเทชันยีน *crp* หรือ *cya* ของ *Escherichia coli* จะส่งผลให้ความสามารถในการเจริญบนอาหารเลี้ยงที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดที่ไม่ใช่กลูโคสของ *E. coli* ลดลง และความสามารถในการเจริญจะกลับมาอีกครั้งเมื่อเติม cAMP ลงในอาหารเลี้ยง จากการทดลองนี้สรุปได้ว่า *E. coli* ที่ถูกทำมิวเทชันนี้ขาดเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ cAMP ซึ่งต่อมามีการพิสูจน์ว่าผลิตภัณฑ์ของยีน *crp* ใน *E. coli* นั่นเองที่สามารถเข้าจับแบบนอนโคเวเลนซ์ (noncovalent) กับ cAMP และเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูป (conformation change) ให้สามารถกระตุ้น (activation) การถอดรหัส (transcription) ผ่านบริเวณตัวส่งเสริม (promoter) ของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายคาร์บอนต่างชนิดได้ (Zubay *et al.*, 1970) จากตัวอย่างดังกล่าวจะเห็นได้ว่าโปรตีนเพียงแค่สองชนิดอาจมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีนได้ ซึ่งต่อมาได้เป็นที่รู้จักและเรียกอย่างแพร่หลายว่า “ระบบสององค์ประกอบ (two-component system)”

การส่งสัญญาณ (signal transduction) ข้ามเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เป็นกระบวนการหนึ่งที่สำคัญในการตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่เกิดขึ้นได้ทั้งภายนอกและภายในเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งกลไกหลักในการส่งสัญญาณที่พบในแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรียในดิน แบคทีเรียที่อาศัยอยู่แบบซิมไบโอติก (symbiotic bacteria) หรือแม้กระทั่งแบคทีเรียก่อโรค (pathogenic bacteria) (Miller *et al.*, 1989; Ronson *et al.*, 1987) มักจะใช้กลไกที่คล้ายกัน คือ ใช้ระบบสององค์ประกอบที่อาศัยปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่น (phosphorylation) ในการถ่ายโอนข้อมูลระหว่างโปรตีนที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีนภายในเซลล์ อาจกล่าวได้ว่าระบบดังกล่าวเป็นศูนย์กลางทางสรีรวิทยาในเซลล์ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสิ่งเร้าภายนอก เช่น การขาดฟอสเฟตหรือไนโตรเจน การตอบสนองต่อปริมาณออกซิเจนที่จำกัด การปรับตัวสู่แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนใหม่ และการเจริญในสภาวะที่มีสารพิษหรือสารเคมีบางชนิดตกค้างมากเกินกว่าปริมาณที่เซลล์ส่วนใหญ่จะสามารถเจริญได้ เป็นต้น

บทความฉบับนี้จึงมุ่งที่จะเรียบเรียงและสรุปความรู้พื้นฐานของระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบ โดยมุ่งความสนใจไปที่หน้าที่และกลไกการส่งสัญญาณระหว่างโปรตีนสองชนิดในระบบที่ใช้ในการดัดแปลงเซลล์เพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกผ่านการควบคุมการแสดงออกของยีนในระดับการถอดรหัส รวมทั้งแสดงข้อคิดเห็นของผู้เขียนถึงแนวโน้มการใช้ความรู้พื้นฐานของระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบในการศึกษาการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกที่เปลี่ยนไปของเซลล์แบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตที่สูงกว่าแบคทีเรีย

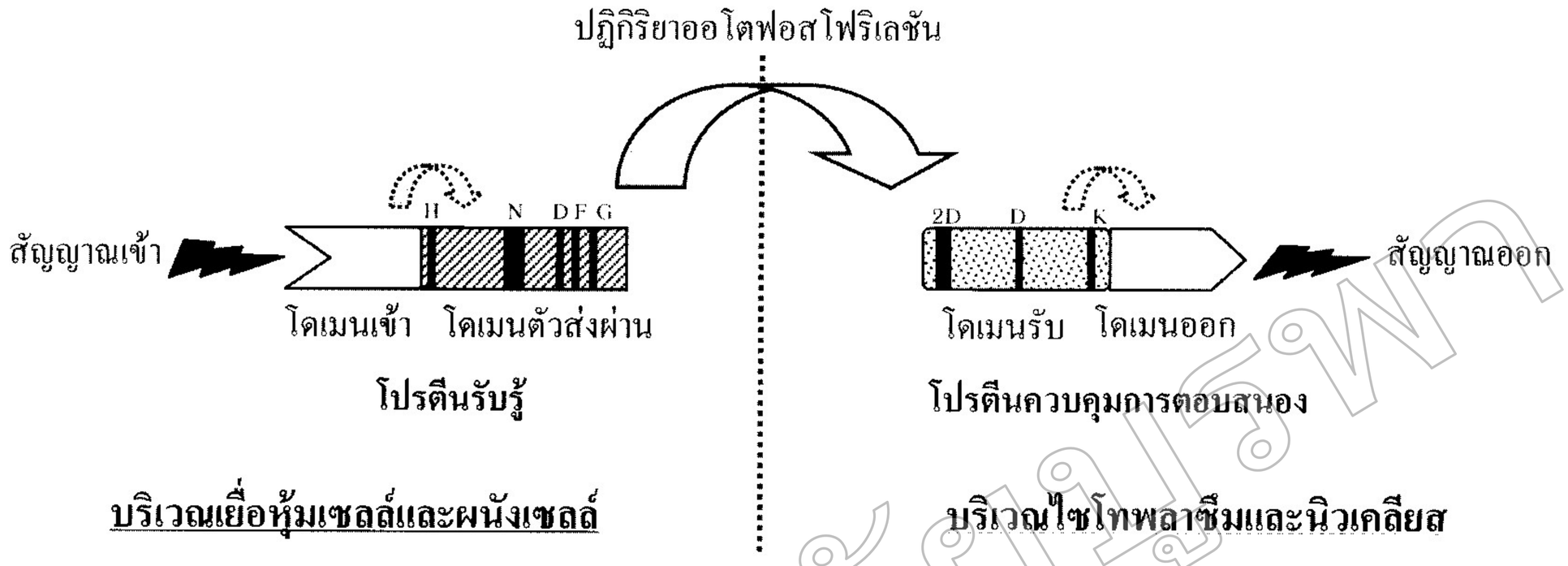
องค์ประกอบของระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบ

ระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบ ประกอบด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ การจดจำสัญญาณ การส่งสัญญาณ และการกระตุ้นการแสดงออกของยีนในระดับการถอดรหัส การทำงานของระบบส่งสัญญาณชนิดนี้ต้องการโปรตีนหลักสองชนิดที่อยู่ในบริเวณต่างกันของเซลล์ ได้แก่

1. โปรตีนรับรู้ (sensing protein) ที่มีลักษณะเป็นโปรตีนเยื่อหุ้ม (transmembrane protein) และแสดงสมบัติคล้ายเอนไซม์ไคเนส (kinase) จนบางครั้งนิยมเรียกว่า โปรตีนฮิสทิดีนไคเนส (protein histidine kinase) โดยทั่วไปมักฝังตัวอยู่ระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในและผนังเซลล์ประกอบด้วยโดเมนย่อย 2 ชนิด คือ โดเมนเข้า (input domain) ซึ่งจัดเรียงตัวอยู่ที่บริเวณผิวเซลล์ มีหน้าที่จดจำสัญญาณสิ่งเร้าจากภายนอกเซลล์ และโดเมนตัวส่งผ่าน (transmitter domain) ที่มีการเรียงตัวอยู่ในไซโทพลาซึม ทำหน้าที่ส่งสัญญาณให้กับโปรตีนควบคุมการตอบสนองซึ่งอยู่ภายในเซลล์ต่อไป (Parkinson & Kofoid, 1992)

2. ตัวควบคุมการตอบสนอง (response regulator) ซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ในไซโทพลาซึม โดยทั่วไปจะแสดงสมบัติในการเป็นตัวกระตุ้นการถอดรหัสของยีน (transcription activator) ประกอบด้วยโดเมนย่อย 2 ชนิด คือ โดเมนรับ (receiver domain) ที่จะคอยรับสัญญาณที่ส่งมาจากโดเมนตัวส่งผ่าน และโดเมนออก (output domain) ที่เมื่อรับสัญญาณจากโดเมนรับแล้วจะส่งออกสัญญาณไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนด้วยการเข้าจับกับสาย

ดีเอ็นเอบริเวณตัวส่งเสริมและเหนี่ยวนำ (induction) ให้เกิดโครงรูปที่เหมาะสมต่อการจดจำและการเข้าจับของซิกมาแฟกเตอร์ (sigma factor) ของเอนไซม์อาร์เอ็นเอพอลิเมอเรส (RNA polymerase) เพื่อเริ่มต้นการถอดรหัสของยีนจำเพาะที่อยู่เดี่ยวหรือยีนจำเพาะที่อยู่ในโอเพรอน (operon) ที่แสดงออกได้ผลลัพท์เป็นโปรตีนเป้าหมายที่รับผิดชอบต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะภายนอกของเซลล์นั้นต่อไป ดังสรุปในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แผนภาพการทำงานของระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบ เมื่อได้รับการกระตุ้นจากสิ่งเร้า โปรตีนรับรู้จะรับสัญญาณจากสิ่งเร้าผ่านโดเมนเข้าก่อนส่งให้โดเมนตัวส่งผ่านในโปรตีนรับรู้ จากนั้นสัญญาณจะถูกส่งต่อให้โดเมนรับของโปรตีนควบคุมการตอบสนองผ่านปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่น ก่อนจะส่งให้โดเมนออกปล่อยสัญญาณไปควบคุมการแสดงออกของยีนผ่านการถอดรหัส

โครงสร้างและหน้าที่ของโดเมนตัวส่งผ่านและโดเมนรับ

โดยปกติโปรตีนรับรู้จะมีโดเมนตัวส่งผ่านอยู่ที่ปลายคาร์บอกซิล (C-terminal) และมีโดเมนเข้าอยู่ที่ปลายอะมิโน (N-terminal) ส่วนโปรตีนควบคุมการตอบสนองจะมีโดเมนรับอยู่ที่ปลายอะมิโนและมีโดเมนออกอยู่ที่ปลายคาร์บอกซิล อย่างไรก็ตามแม้ว่าในปัจจุบันยังไม่ทราบข้อมูลโครงสร้างระดับทุติยภูมิและตติยภูมิของโดเมนตัวส่งผ่านมากนัก แต่จากข้อมูลโครงสร้างระดับปฐมภูมิพบว่าโดเมนตัวส่งผ่านมักเป็นช่วงของสายพอลิเพปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนเรียงต่อกันยาวประมาณ 200 หน่วย (residue) และมีการอนุรักษ์ (conservation) สูงมาก (Gross *et al.*, 1989; Hakenberck & Stock, 1996) จากการเปรียบเทียบความเหมือน (identity) ของลำดับกรดอะมิโนภายในโดเมนตัวส่งผ่านของแบคทีเรียที่มีระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบพบชนิดของกรดอะมิโนที่มีความอนุรักษ์ร่วมกัน 5 ชนิด คือ กรดอะมิโนฮิสทิดีน (H) แอสพาราจีน (N) แอสพาเตท (D) ฟีนิลอะลานีน (F) และไกลซีน (G) (ดังภาพที่ 1) โดยกรดอะมิโนฮิสทิดีน (H) ที่พบที่ปลายอะมิโนของโดเมนตัวส่งผ่านนั้นสามารถแสดงสมบัติเป็นได้ทั้งเอนไซม์ออโตไคเนส (autokinase) ที่เร่งปฏิกิริยาออโตฟอสโฟริเลชั่นของโดเมนตัวส่งผ่านในโปรตีนรับรู้ และยังแสดงสมบัติของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ที่เร่งปฏิกิริยาดีฟอสโฟริเลชั่นให้โดเมนรับในโปรตีนควบคุมการตอบสนองต่อไป สำหรับกรดอะมิโนสี่ชนิดที่ปลายคาร์บอกซิลของโดเมนตัวส่งผ่าน (N, D, F, และ G) ซึ่งมีการอนุรักษ์สูงมากเช่นกันนั้นคิดว่าเกี่ยวข้องกับการขดตัวเป็นบริเวณแอคทีฟ(active site) สำหรับการเข้าจับกับ ATP และเร่งปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่ฟอสเฟต ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรดอะมิโนไกลซีนที่เป็นองค์ประกอบหลักนั้นมีความเหมือนกับที่พบในบริเวณจับของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide binding motif) ของโปรตีนชนิดอื่น (Stock et al., 1989)

สำหรับโครงสร้างของโดเมนรับพบว่าเป็นช่วงของสายพอลิเพปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนเรียงต่อกันยาวประมาณ 125 หน่วยและมีความเหมือนของลำดับกรดอะมิโนในโปรตีนควบคุมการตอบสนองในแบคทีเรียแต่ละชนิดร้อยละ 20-30 (Hakenberck & Stock, 1996) การจัดเรียงตัวของโดเมนรับมีลักษณะเป็นแบบ α/β-บาร์เรล (α/β-barrel) โดยที่บริเวณใกล้ตอนกลางจะเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาออโตฟอสโฟริเลชั่นของระบบ และที่บริเวณใกล้ปลายอะมิโนของโดเมนรับนี้จะมีกรดอะมิโนแอสพาเตท (D) เป็นองค์ประกอบหลักและมีการอนุรักษ์สูงในทุกระบบ ขณะที่ตรงบริเวณปลายคาร์บอกซิลจะมีความหลากหลายในแบคทีเรียแต่ละชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับความยาว

ของลำดับกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบนั้นๆ จึงทำให้สามารถนำสมบัตินี้มาใช้ในการจัดจำแนกโปรตีนควบคุมการตอบสนองได้เป็นกลุ่มต่างๆ กันออกไป นอกจากนี้กรดอะมิโนไลซีน (K) ที่ปลายคาร์บอกซิลของโปรตีนควบคุมการตอบสนองนี้ยังสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปของโดเมนรับในขณะเกิดปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่นให้สามารถเข้าจับกับบริเวณตัวส่งเสริมบนสายดีเอ็นเอและกดดัน (repression) หรือกระตุ้นการถอดรหัสของยีนเป้าหมายที่รับผิดชอบต่อการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกของแบคทีเรียให้เกิดได้ง่ายขึ้นอีกด้วย (Parkinson & Kofoid, 1992) อย่างไรก็ตามในแบคทีเรียบางชนิด ลำดับกรดอะมิโนที่โดเมนรับอาจมีโครงสร้างการจัดเรียงตัวที่แตกต่างกันส่งผลให้เกิดกลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนที่ต่างกันออกไป กล่าวคือ ในแบคทีเรียบางชนิดอาจมีลักษณะการทำงานเป็นโดเมนเดี่ยวอิสระ ยกตัวอย่างเช่น CheY, Spo0F, PleC หรืออาจมีการเชื่อมต่อกันเองซ้ำๆ (tandem) เช่น *Myxococcus xanthus* FrzZ หรือ *Caulobacter crescentus* PleD รวมทั้งอาจไม่มีหน้าที่ใดๆ เลยที่เกี่ยวข้องกับการถอดรหัส เช่น CheB ที่เกี่ยวข้องในการตอบสนองต่อการเคลื่อนเหตุสารเคมี (chemotaxis) ของแบคทีเรียประเภทที่มีแฟลเจลลา (flagellated bacteria) (Lane *et al.*, 1995; McBride *et al.*, 1989; Smith, 1989; Stewart & Dahlquist, 1987; Yonekawa *et al.*, 1983)

กลไกการส่งสัญญาณระหว่างโปรตีนรับรู้และโปรตีนควบคุมการตอบสนอง

การตอบสนองของแบคทีเรียต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ในสภาวะที่มีปริมาณไนโตรเจนจำกัด สภาวะที่มีสารพิษ สภาวะที่เป็นกรด อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำจนเกินไป สภาวะที่มีความดันหรือความชื้นสูง ผ่านระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบนี้ต้องอาศัยปฏิกิริยาออโตฟอสโฟริเลชั่นและพลังงานที่ได้จากกระบวนการสลาย ATP ด้วยน้ำโดยการทำงานของเอนไซม์ ATPase (Bourret *et al.*, 1991; Comeau *et al.*, 1985; Iuchi *et al.*, 1989; Ninfa *et al.*, 1988; Parkinson, 1993; Ronson *et al.*, 1987; Stewart & Dashlquist, 1987; Stock *et al.*, 1989; Widenhorn *et al.*, 1989) ซึ่งโดยส่วนใหญ่กลไกการส่งสัญญาณจะประกอบด้วยปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่ γ-ฟอสเฟตของ ATP ผ่านโปรตีนตัวกลางเป็นลำดับขั้นตอนดังสรุปในสมการที่ 1-3

$$ATP + His \leftrightarrow ADP + His\sim P \qquad \textit{สมการที่ 1}$$

$$His\sim P + Asp \leftrightarrow His + Asp\sim P \qquad \textit{สมการที่ 2}$$

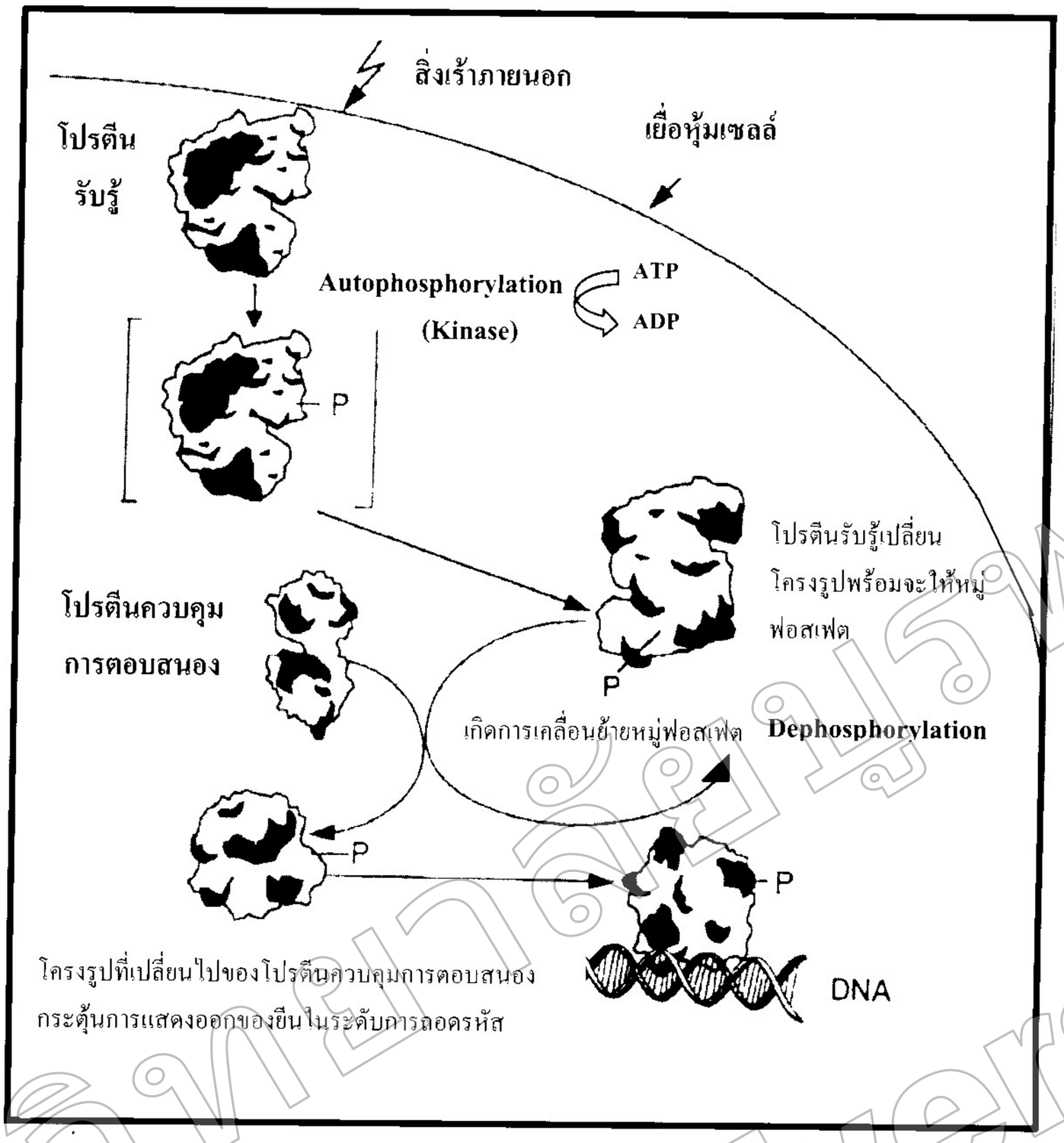
$$Asp\sim P + H_2O \leftrightarrow Asp + Pi \qquad \textit{สมการที่ 3}$$

กล่าวคือ เมื่อได้รับสิ่งเร้าจากภายนอกในรูปแบบของลิแกนด์อะตอมไนโตรเจนตำแหน่งที่ 3 (N-3 position) ของกรดอะมิโนฮิสทิดีนที่อยู่ในสายพอลิเพปไทด์ของโดเมนตัวส่งผ่านในโปรตีนรับรู้ (ฮิสทิดีนไคเนส) จะเกิดปฏิกิริยาออโตฟอสโฟรีเลชั่นรับหมู่ γ-ฟอสเฟตจาก ATP (สมการที่ 1) ได้เป็นสารตัวกลางพลังงานสูง (high-energy intermediate, His~P) ที่พร้อมจะส่งหมู่ γ-ฟอสเฟตต่อให้กับกรดอะมิโนแอสพาเตทในโดเมนรับของโปรตีนควบคุมการตอบสนอง (สมการที่ 2) เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปที่เหมาะสมต่อการเข้าควบคุมการแสดงออกของยีน ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) ดึงหมู่ γ-ฟอสเฟตออกจากกรดอะมิโนแอสพาเตท (สมการที่ 3) เพื่อกระตุ้นให้โครงรูปของโปรตีนควบคุมการตอบสนองกลับสู่โครงรูปธรรมชาติที่พร้อมจะรับหมู่ γ-ฟอสเฟตจากโดเมนตัวส่งผ่านของโปรตีนรับรู้ต่อไป ดังสรุปในภาพที่ 2

NtrB-NtrC ตัวอย่างของระบบสององค์ประกอบที่ควบคุมแอสซิมิเลชันของไนโตรเจน

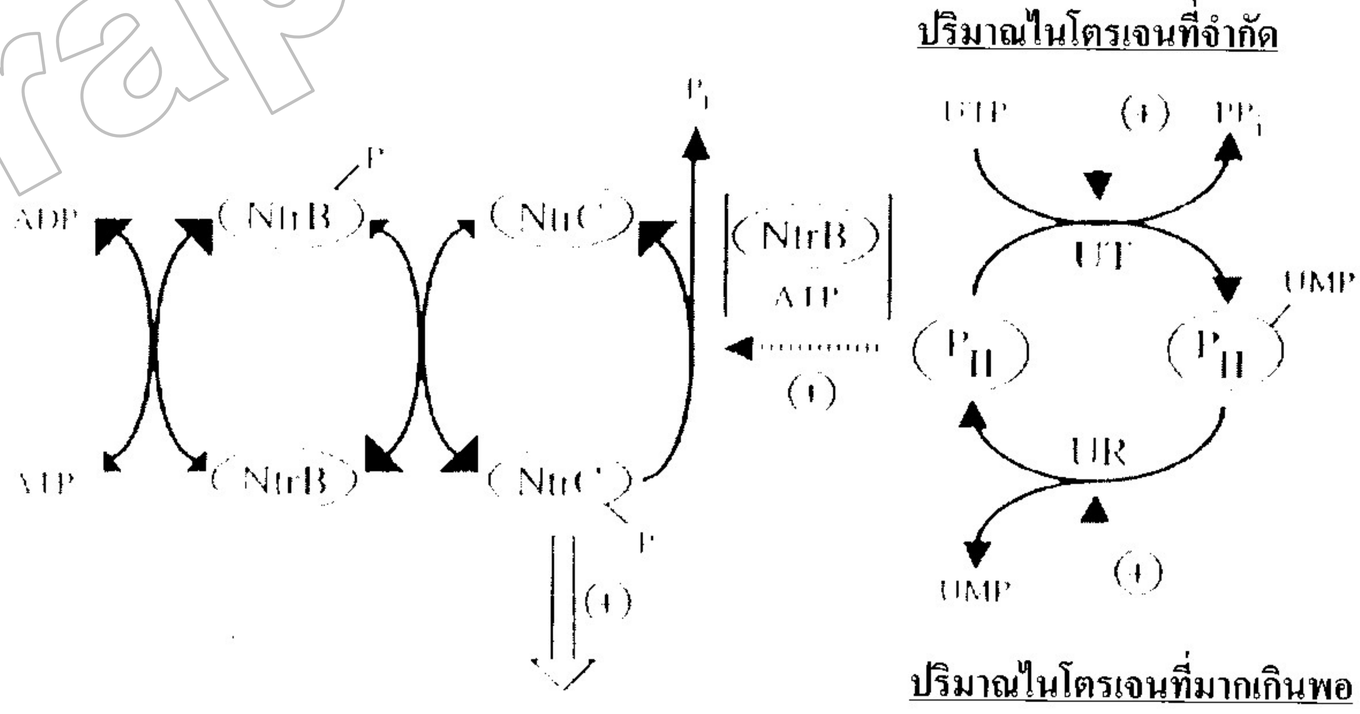
เอนเทริกแบคทีเรีย (enteric bacteria) บางชนิด เช่น *E. coli* หรือ *Salmonella typhimurium* สามารถตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนโตรเจนในสภาวะแวดล้อมได้โดยใช้ระบบสององค์ประกอบในการควบคุมการถอดรหัสของยีน *glnA* ที่แสดงออกเป็นเอนไซม์กลูตามีนซินทีเทส (glutamine synthetase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์กรดอะมิโนกลูตามีน (glutamine) จากกรดอะมิโนกลูตาเมท (glutamate) และแอมโมเนีย (ammonia) ในกระบวนการแอสซิมิเลชัน (assimilation) ของไนโตรเจน มีรายงานพบว่าการถอดรหัสของยีน *glnA* จะใช้บริเวณส่งเสริมสองชนิด คือ *glnAp1* ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้และ *glnAp2* ที่ถูกกระตุ้นได้จากปริมาณของไนโตรเจนที่จำกัดโดยวงจรสัญญาณ (signaling circuit) ที่ควบคุมการถอดรหัสของบริเวณส่งเสริม *glnAp2* นั้นประกอบด้วยโปรตีนรับรู้ซึ่งมีสมบัติของเอนไซม์ไคเนส คือ NtrB หรือในบางครั้งเรียกว่า NR_{II} และโปรตีนควบคุมการตอบสนอง คือ NtrC หรือในบางครั้งรู้จักในชื่อ NR_I ดังแสดงในภาพที่ 3 นอกจากนี้ในวงจรสัญญาณยังต้องการโปรตีนองค์ประกอบเพิ่มเติมอีกสองชนิด คือ เอนไซม์ถ่ายโยนยูริดิลิว (uridylyltransferase; UT) และเอนไซม์กำจัดยูริดิลิว (uridylylremoving; UR) รวมทั้งโปรตีน ซับสเตรตของเอนไซม์นั้นด้วย (Parkinson, 1993)

จากการศึกษาโครงสร้างของ NtrC ซึ่งเป็นโปรตีนควบคุมการตอบสนองของระบบสององค์ประกอบชนิดนี้พบว่าที่ปลายอะมิโนประกอบด้วยโดเมนรับและโดเมนเพิ่มเติมอีกสองชนิดที่มีความจำเป็นต่อการกระตุ้นการถอดรหัสจากบริเวณส่งเสริม



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงโครงรูปธรรมชาติของโปรตีนรับรู้และโปรตีนควบคุมการตอบสนองในระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบที่มีผลต่อการแสดงออกของยีนจำเพาะหรือโอเพรอนในระดับการถอดรหัส

ที่มา : ดัดแปลงจาก Hoch & Silhavy, 1995



ภาพที่ 3 การควบคุมการถอดรหัสของกลูตามีนซินทีเทสโดยระบบสององค์ประกอบ NtrB-NtrC

ที่มา : ดัดแปลงจาก Bourret, 1991

glnAp2 ซึ่งใช้ซิกมาแฟกเตอร์ของเอนไซม์อาร์เอ็นเอพอลิเมอเรสที่มีน้ำหนักโมเลกุล 54 กิโลดาลตัล (σ^{54}) ส่วนโดเมนที่ปลายคาร์บอกซิลของ NtrC นั้นจะเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเข้าจับของ NtrC กับบริเวณส่งเสริมเมื่อมีการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับ NtrC และมีการเข้าจับของ NtrC ที่บริเวณส่งเสริม จะทำให้เกิดโครงสร้างเชิงซ้อนการถอดรหัส (transcription complex) เป็นโครงสร้างแบบเปิด (open-form) ระหว่างเอนไซม์อาร์เอ็นเอ-พอลิเมอเรสและบริเวณส่งเสริม *glnAp2* ที่ต้องการพลังงานที่ได้มาจากการสลาย ATP ด้วยน้ำ จึงอาจกล่าวได้ว่าการเข้าจับของ NtrC แสดงลักษณะเป็นเหมือนตัวเหนี่ยวนำการถอดรหัส (transcriptional enhancer) ของยีน *glnA*

สำหรับ NtrB นั้นเป็นโปรตีนที่อยู่ในไซโทพลาซึมซึ่งมีสมบัติเป็นได้ทั้งเอนไซม์ไคเนสและฟอสฟาเตสที่ใช้ควบคุมปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่นของ NtrC และมีหน้าที่ตอบสนองต่อสัญญาณของปริมาณไนโตรเจนที่ได้มาจากกลไกการส่งสัญญาณภายในที่ประกอบด้วยโปรตีน UT, UR และ P_{II} การเปลี่ยนแปลงระดับของไนโตรเจนภายในเซลล์ส่งผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ UT และ UR ที่ถูกควบคุมอีกทีโดยการดัดแปลงพันธะโคเวเลนซ์ (covalent modification) จากการเข้าจับของ P_{II} กลไกการส่งสัญญาณเริ่มจากปฏิกิริยาออโตฟอสโฟริเลชั่นบนกรดอะมิโน-ฮีสทิดีนของ NtrB ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายหมู่ฟอสเฟตจาก NtrB ให้กับกรดอะมิโนแอสปาเตทซึ่งตั้งอยู่ที่ปลายอะมิโนของ NtrC เกิดเป็น NtrC ที่มีหมู่ฟอสเฟตติดอยู่ (NtrC-phosphate) ซึ่งมีความไม่คงตัวเนื่องจากมีครึ่งชีวิตที่สั้นแค่ประมาณ 4 นาที (Bourret *et al.*, 1991) จึงสามารถเกิดการเร่งปฏิกิริยาสลายด้วยน้ำจากการรวมตัวกับ NtrB, ATP, UT, UR และ P_{II} ที่เป็นตัวเชื่อมของปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่นกับโปรตีนรับรู้ไนโตรเจน โดยปริมาณของไนโตรเจนที่มีอยู่ในสภาวะที่เซลล์เจริญจะเป็นตัวกำหนดอัตราส่วนของกรดอะมิโนกลูตามีนและแอลฟาคีโตกลูตาเลท (α-ketoglutarate) ที่อยู่ภายในเซลล์ และมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ UT, UR และ P_{II} ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาการถ่ายโอนหรือการกำจัดยูริดิลิวต่อไป โดยทั่วไปเมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะที่มีปริมาณไนโตรเจนที่จำกัด ระดับของแอลฟาคีโตกลูตาเลทที่เพิ่มขึ้นจะไปกระตุ้นปฏิกิริยาการถ่ายโอนยูริดิลิวของP_{II} ทำให้ได้เป็น NtrC-phosphate ที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น จึงกระตุ้นการถอดรหัสจากบริเวณส่งเสริม *glnAp2* และในทางตรงกันข้ามเมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะที่มีปริมาณไนโตรเจนมากเกินพอจะไม่มีการดัดแปลงโครงรูปของ P_{II} จึงป้องกันการรวมตัวของ NtrC และฟอสเฟตได้ ทำให้การกระตุ้นการถอดรหัสจากบริเวณส่งเสริม *glnAp2* สิ้นสุดลง จากตรงนี้จะเห็นได้ว่าการกระตุ้นและการสิ้นสุดการกระตุ้นของการถอดรหัสจากบริเวณส่งเสริม *glnAp2* นั้นเป็นกลไกที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนที่ต้องการ NtrB เป็นโปรตีนรับรู้ต่อสิ่งเร้า (ไนโตรเจน) ที่มีการส่งสัญญาณผ่านโปรตีน UT, UR และ P_{II} (Bourret et al., 1991; Parkinson, 1993)

แนวโน้มการใช้ระบบสององค์ประกอบศึกษาการตอบสนองต่อสิ่งเร้าของสิ่งมีชีวิต

จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่นของโดเมนรับในโปรตีนควบคุมการตอบสนอง เป็นจุดสำคัญในการกำหนดการเข้าจับของโปรตีนควบคุมการตอบสนองกับบริเวณตัวส่งเสริมบนสายดีเอ็นเอ แม้ว่าในปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดถึงระบบที่ใช้ในการควบคุมการเกิดปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่นของโปรตีนควบคุมการตอบสนอง แต่จากข้อมูลที่มีอยู่พบว่าฮิสทิดีนไคเนสแสดงหน้าที่สำคัญในกลไกนี้โดยเป็นได้ทั้งตัวให้หมู่ฟอสโฟริลและในบางกรณีก็แสดงสมบัติในการกำจัดหมู่ฟอสโฟริล อย่างไรก็ตามกลไกที่ไวต่อสิ่งเร้าภายนอกของฮิสทิดีนไคเนสนั้นยังไม่เป็นที่เข้าใจมากนักในปัจจุบัน แม้ว่าจะเคยมีรายงานถึงการทำมิวเทชันของโปรตีนดังกล่าวรวมทั้งการทำวิศวกรรมโปรตีนที่เกี่ยวข้องในระบบสององค์ประกอบดังกล่าวในหลอดทดลอง (*In vitro* protein engineering) แล้วก็ตาม (Comeau *et al.*, 1985; Hakenberck & Stock, 1996; Iuchi *et al.*, 1989; Yonekawa *et al.*, 1983) แต่จากข้อมูลจีโนมของแบคทีเรียบางชนิดที่มีการศึกษามาแล้ว อาจเป็นไปได้ที่จะใช้ข้อมูลดังกล่าวในการหาโปรตีนชนิดใหม่ที่เป็นองค์ประกอบของระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรียที่มีสมบัติเฉพาะ เช่น แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญได้ หรือแบคทีเรียที่มีความทนต่อแรงดันที่สูงและอุณหภูมิที่ต่ำมาก อย่างแบคทีเรียใต้ทะเลลึก (deep-sea bacteria) เป็นต้น และเมื่อรวมกับข้อมูลของกลไกการส่งสัญญาณและการควบคุมการแสดงออกของยีนจำเพาะหรือโอเพรอนที่รับผิดชอบต่อการตอบสนองต่อสิ่งเร้าเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปอาจทำให้นักวิจัยสามารถพัฒนาและค้นพบกลไกการตอบสนองต่อสิ่งเร้าชนิดใหม่ของทั้งในแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตชั้นสูงกว่าแบคทีเรีย รวมทั้งสามารถควบคุมการแสดงออกหรือดัดแปลงสมบัติของยีนที่เกี่ยวข้องในกลไกดังกล่าวให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์การใช้งานที่หลากหลายมากขึ้นก็เป็นได้

บทสรุป

แบคทีเรียนิยมใช้ระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบในการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ โดยมีโปรตีนรับรู้ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งไวต่อสิ่งเร้าภายนอกในรูปแบบของลิแกนด์ส่งสัญญาณผ่านโดเมนเข้าและโดเมนตัวส่งผ่านด้วยปฏิกิริยาออโตฟอสโฟริเลชั่นที่บริเวณกรดอะมิโน-ฮิสทิดีน เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปของโปรตีนรับรู้ จากนั้นส่งสัญญาณต่อให้โดเมนรับของโปรตีนควบคุมการตอบสนองที่อยู่ภายในเซลล์ที่บริเวณกรดอะมิโนแอสพาเตทและโดเมนออก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปของโปรตีนควบคุมการตอบสนองให้เหมาะสมกับการเข้าจับกับบริเวณตัวส่งเสริมบนสายดีเอ็นเอกระตุ้นให้เกิดการเริ่มต้นการถอดรหัสของยีนจำเพาะหรือโอเพรอนที่รับผิดชอบต่อการปรับตัวให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ในสภาวะใหม่ได้

เอกสารอ้างอิง

Bourret, R.B., Borkovich, K.A., & Simon, M.I. (1991). Signal transduction pathways involving protein phosphorylation in prokaryotes. *Annual Review of Biochemistry. 60*, 401-441.

Comeau, D.E., Ikenaka, K., Tsung, K., & Inouye, M. (1985). Primary characterization of the protein products of the *Escherichia coli* OmpB locus: structure and regulation of synthesis of the OmpR and EnvZ proteins. *Journal of Bacteriology. 164*, 578-584.

Gross, R., Arič, B., & Rappuoli, R. (1989) Families of bacterial signal-transducing proteins. *Molecular Microbiology. 3* (11), 1661-1667.

Hakenberck, R., & Stock, J.B. (1996). Analysis of two-component signal transduction systems involved in transcriptional regulation. *Methods in Enzymology, 273*, 281-300.

Hoch, J.A., & Silhavy, T.J. (ed.) .(1995). *Two-component signal transduction.* Washington DC : American Society for Microbiology.

Iuchi, S., Cameron, D.C., & Lin, E.C.C. (1989). A second global regulator gene (*arcB*) mediating repression of enzymes in aerobic pathways of *Escherichia coli. Journal of Bacteriology. 171*, 868-873.

Lane, T., Benson, A., Hecht, G.B., Burton, G.J., & Newton, A. (1995). Switches and signal transduction networks in the *Caulobacter crescentus* cell cycle. In Hoch, J.A., & Silhavy, T.J. (ed.). *Two-component signal transduction* (pp 403-418). Washington DC : American Society for Microbiology.

McBride, M.J., Weinberg, R.A., & Zusman, D.R. (1989). "Frizzy" aggregation genes of the gliding bacterium *Myxococcus xanthus* show sequence similarities to the chemotaxis genes of enteric bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA, 86*, 424-428.

Miller, J.F., Mekalanos, J.J., & Falkow, S. (1989). Coordinate regulation and sensory transduction in the control of bacterial virulence. *Science, 243*, 916-922.

Ninfa, A.J., Ninfa, E.G., Lupas, A., Stock, A., Magasanik, B., & Stock, J. (1988). Crosstalk between bacterial chemotaxis signal transduction proteins and the regulators of transcription of the Ntr regulon: evidence that nitrogen assimilation and chemotaxis are controlled by a common phosphotransfer mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA, 85*, 5492-5496.

Parkinson, J.S. (1993). Signal transduction schemes of bacteria. *Cell, 73*, 857-871.

Parkinson, J.S., & Kofoid, E.C. (1992). Communication modules in bacterial signaling proteins. *Annual Review of Genetics. 26*, 71-112.

Perlman, R.L., & Pastan, I. (1969). Pleiotropic deficiency of carbohydrate utilization in an adenylylcyclase deficient mutant of *Escherichia coli. Biochemical and Biophysical Research Communications. 37*, 151-157.

Ronson, C.W., Nixon, B.T., & Ausubel, F.M. (1987). Conserved domains in bacterial regulatory proteins that respond to environmental stimuli. *Cell, 49*, 579-581.

Smith, I. (1989). The initiation of sporulation. In Smith, I., Slepecky, R., & Setlow, P. (ed.). *Regulation of prokaryotic development* (pp 185-210). Washington DC : American Society for Microbiology.

Stewart, R.C., & Dahlquist. (1987). Molecular components of bacterial chemotaxis. *Chemistry Reviews. 87*, 997-1025.

Stock, J.B., Ninfa, A. J., & Stock, A.M. (1989). Protein phosphorylation and regulation of adaptive responses in bacteria. *Microbiological Reviews. 53*, 450-490.

Widenhorn, K.A., Somers, J.M., & Kay, W.W. (1989). Genetic regulation of the tricarboxylate transport operon (tctI) of *Salmonella typhimurium*. *Journal of Bacteriology. 171*, 4436-4441.

Yonekawa, H., Hayashi, H., & Parkinson, J.S. (1983). Requirement of the *cheB* function for sensory adaption in *Escherichia coli. Journal of Bacteriology. 156*, 1228-1235.

Zubay, G., Schwartz, D., & Bechwith, J. (1970). Mechanism of activation of catabolite-sensitive genes: a positive control system. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA, 66*, 104-110.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University