

تنظیم سنتز و عمل پروتئینها در باکتری

در فصول قبل خصوصیات کلی RNA, DNA و نقش آنها در سنتز پروتئین توضیح داده شد. در این فصل مکانیسم‌های کنترل سرعت سنتز پروتئین مورد بررسی قرار می‌گیرند. از آنجا که در شرایط مختلف محیطی پروتئین‌های مختلف به میزان متفاوت وجود دارند، باید سلول قادر باشد بطور انتخابی پروتئین‌هایی که بمقدار زیاد لازم هستند را بیشتر سنتز نماید. ضمناً باید راه‌هایی وجود داشته باشد تا سلول در شرایط محیطی و تغذیه‌ای مختلف مقدار نسبی پروتئین‌ها را تغییر دهد. امروزه می‌دانیم که سرعت مراحل مختلف سنتز پروتئین، از اتصال RNA پلی‌مراز به DNA (برای سنتز $mRNA$) تا کامل شدن پلی‌پپتید در ریبوزوم همگی تحت کنترل داخلی (ژنتیکی) و محیط شیمیایی خارجی هستند. در اینجا برای نشان دادن نحوه عمل عوامل فوق از باکتریها استفاده می‌شود چرا که اکثر مفاهیم مهمی که تا کنون در این زمینه حاصل شده است، نتیجه کار بر روی آنها بوده است.

پروتئین‌های مختلف بمقدار متفاوتی تولید می‌شوند

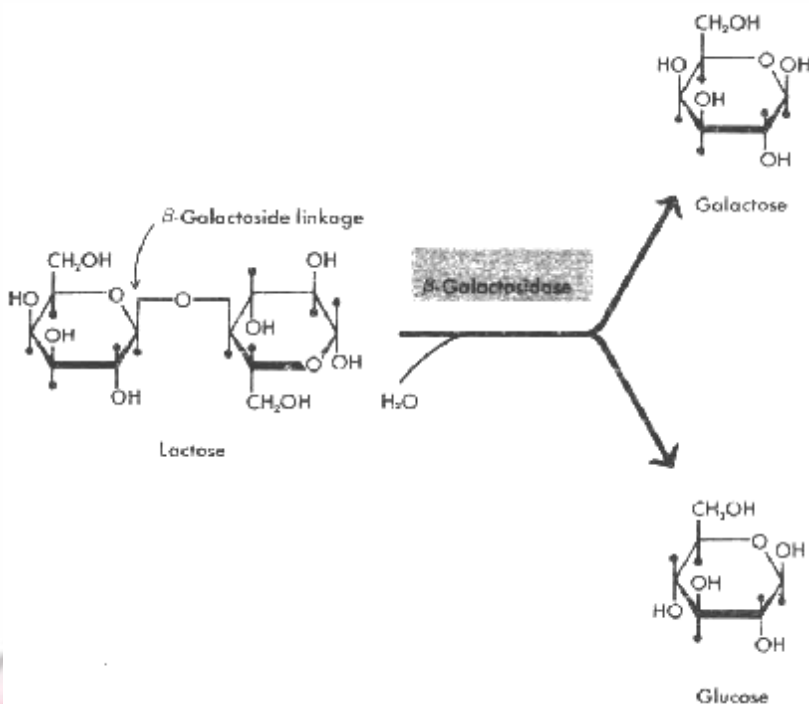
تا کنون گفته می‌شود که با توجه بطور کروموزوم، کلی باسیل می‌تواند 4000 - 2000 نوع پلی‌پپتید مختلف را سنتز کند ولی هنوز نمی‌دانیم در یک زمان معین چند نوع از آنها در کلی باسیل موجود است. گفته می‌شود چنانچه کلی باسیل در محیطی رشد کند که تنها منبع کربن آن گلوکز باشد، حدود 800 - 600 نوع آنزیم مختلف برای ساخت متابولیت‌های آن لازم هستند. بعضی از این آنزیمها خصوصاً آنهایی که در اولین

مراحل تجزیه گلوکز عمل می‌کنند و یا در ساختن اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها نقش دارند. بمقدار زیاد وجود دارند. آنزیمهایی مربوط به تولید ATP نیز فراوان می‌باشند ولی بقیه آنزیمها خصوصاً آنهایی که مسئول سنتز کوآنزیمها هستند بمقدار کم وجود دارند. پروتئین‌های مختلف ساختمانی که در دیواره و غشاء سلولی و ریبوزومها وجود دارند نیز نسبتاً فراوان سنتز می‌شوند.

دانستن تعداد نسخه‌های هر یک از پروتئین‌های کمیاب و فراوان در کلی‌بسیل مفید است. یکی از

پروتئین‌هایی که نسبتاً بمقدار زیادی ساخته می‌شود، آنزیم بتا گالاکتوزیداز است $(MW = 4/6 \times 10^5)$.

این آنزیم سبب شکسته شدن لاکتوز و تبدیل آن به یک مولکول گلوکز و یک گالاکتوز می‌شود (شکل 1).



شکل 1: در اثر عمل آنزیم بتاگالاکتوزیداز، لاکتوز هیدرولیز شده گلوکز و گالاکتوز بوجود می‌آید. جهش یافته‌هایی که قادر

به سنتز این پروتئین نباشند، نمی‌توانند از لاکتوز بعنوان منبع کربن استفاده کنند.

هر مولکول فعال بتاگالاکتوزیداز از چهار زنجیره پلی پپتیدی یکسان با وزن مولکولی 116000 ساخته شده است. بدون وجود این آنزیم لاکتوز نمی تواند مورد استفاده قرار گیرد. چنانچه کلی باسیل در محیطی رشد کند که تنها منبع کربن آن لاکتوز باشد معمولاً 3000 مولکول بتاگالاکتوزیداز خواهد داشت که تقریباً 1/5 درصد کل پروتئین سلولی را تشکیل می دهد. این مقدار حداکثر آنزیمی است که توسط یک ژن بتاگالاکتوزیداز می تواند تولید شود. وجود دو ژن مقدار فوق را به 3 درصد کل پروتئین سلولی افزایش می دهد.

امروزه می دانیم که در شرایط مطلوب یک ژن می تواند چند برابر ژن بتاگالاکتوزیداز رونویسی و ترجمه شود بطوریکه محصول آن نیمی از پروتئین های سلول را تشکیل دهد. هیچ سلولی بطور طبیعی این مقدار پروتئین سنتز نمی کند و اگر سنتز کرد سالم تلقی نمی شود و چنان مقداری تنها بکمک مهندسی ژنتیک تولید شده است.

از دیگر پروتئین هایی که بمقدار فراوان در سلول یافت می شوند می توان از اجزاء ریبوزومی نام برد. 53 نوع پروتئین ریبوزومی وجود دارد که بطور متوسط هر یک حدود 20000 دالتون وزن دارند. این پروتئین ها مجموعاً 20 درصد کل پروتئین های سلولی را که تنها منبع کربن آن گلوکز است را تشکیل می دهند. بنابراین هر کدام از آنها 0/3 درصد پروتئین سلولی می باشند. تعداد هر یک از این پروتئین ها حدود 20000 است. یکی دیگر از فراوانترین پروتئین های کلی باسیل فاکتور طویل کننده $Ef - Tu$ است که در هر سلول 100000 نسخه از آن وجود دارد.

در مقایسه با این پروتئین ها، از بعضی از پروتئین های تنظیمی و آنزیمهایی که اجزاء فرعی سلولی را می سازند تنها چند تا چند صد نسخه وجود دارد. به همین جهت آنها را بسختی می توان تخلیص و شناسایی

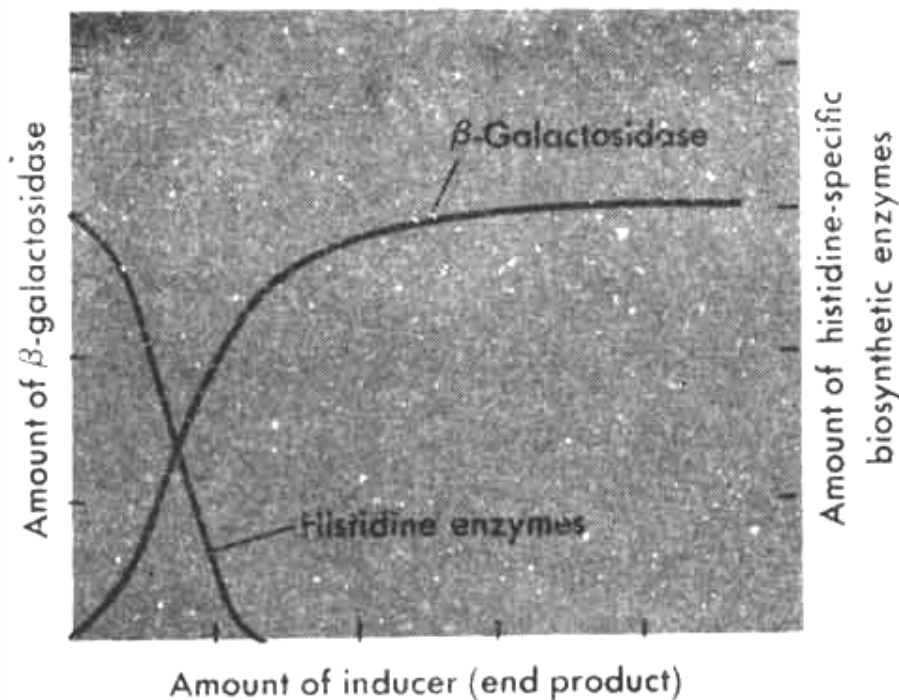
کرد و در نتیجه اطلاعات بسیار کمی در مورد آنها وجود دارد.

ارتباط بین مقدار موجود و مقدار مورد نیاز پروتئین های خاص

بعضی از پروتئین ها بر حسب مقدار مورد نیاز سلول به مقدار متفاوتی سنتز می شوند. بعبارت دیگر در شرایطی که به آنها احتیاج است نسبت به شرایط دیگر بیشتر سنتز می شوند. برای مثال چنانچه کلی باسیل در محیطی رشد کند که تنها منبع کربن آن بتاگالاکتوزیدهایی چون لاکتوز باشد، 3000 عدد بتاگالاکتوزیداز در آن وجود خواهد داشت. در حالیکه در سلولهایی که در منابع دیگر کربن رشد می کنند کمتر از یک هزارم مقدار فوق در سلول وجود خواهد داشت. به سوبستراهایی چون لاکتوز که در اثر افزوده شدن به محیط سبب افزایش آنزیم بخصوصی می شوند القاء کننده می گویند. آنزیمهایی که در اثر وجود القاء کننده ها زیاد می شوند را القاء شونده می نامند. از طرف دیگر موادی وجود دارند که سبب کاهش آنزیمهایی که در سنتز آنها شرکت می کنند می شوند. بسیاری از آنزیمهایی که در بیوسنتز اسیدهای آمینه نقش دارند از این جمله هستند. چنانچه کلی باسیل در محیطی قرار گیرد که فاقد هر نوع اسید آمینه باشد مقدار کلیه آنزیمهای لازم برای بیوسنتز 20 نوع اسید آمینه افزایش می یابد. از طرف دیگر رشد در محیط حاوی اسیدهای آمینه باعث کاهش شدید آنزیمهای بیوسنتز کننده مربوط می شود. به آنزیمهای بیوسنتز کننده ای که مقدار آنها در حضور محصول نهایی کاهش می یابد (مثلاً هیستیدین محصول نهایی آنزیمهای بیوسنتز کننده هیستیدین است) آنزیمهای سد شونده گفته می شود. متابولیت هایی که در اثر عرضه آنها به محیط کشت سبب کاهش مقدار آنزیم بخصوصی می شوند کمک سد کننده نامیده می شوند. پاسخهای القایی و سدکنندگی هر دو بطور یکسان برای باکتری مفید می باشند. بطوریکه در هنگامی که به یک آنزیم که سبب تخریب یک مولکول غذایی و یا

سنتز یک جزء سلولی مورد نیاز می‌شوند، احتیاج باشد آن آنزیم وجود خواهد داشت و در شرایط بر عکس مقدار آنها کم خواهد بود.

پاسخ انطباقی به محیط بصورت همه یا هیچ نیست بطوریکه در شرایطی که نیاز متوسط باشد سنتز آنزیم نیز متوسط خواهد بود (شکل 2).



شکل 2: تغییر مقدار آنزیم در اثر تغییر مقدار القاء‌کننده (محصول نهایی) موجود در محیط کشت.

مشابه چنین وضعیتی در مورد پروتئین‌های ساختمانی نیز دیده می‌شود مثلاً در سلولهای در حال

رشد سریع 25-30 درصد کل پروتئین‌های سلولی را پروتئین‌های ریبوزومی تشکیل می‌دهند و در شرایط

نامناسب غذایی که سلول به ریبوزوم کمتری نیاز دارد تعداد ریبوزومها به $\frac{1}{5}$ مقدار فوق کاهش می‌یابد.

تغییر مقدار یک پروتئین ممکن است بدلیل تغییر مقدار *mRNA* آن باشد

اکثر مولکول‌های پروتئینی در حال تقسیم سریع پس از سنتز کاملاً پایدار هستند. بنابراین تغییر مقدار پروتئین‌های سلول عمدتاً مربوط به تغییر مربوط به تغییر میزان سنتز آنها است. البته استثنای مهمی نیز در این مورد وجود دارد بطوریکه ملاحظه می‌شود که در اثر عادت تدریجی باکتری به شرایط جدید محیطی مقدار پروتئین‌ها با مقدار *mRNA* آنها بطور متناسبی تغییر می‌کند. برای مثال تعداد *mRNA* های مربوط به آنزیم بتاگالاکتوزیداز در سلول‌هایی که بمقدار زیاد آنرا می‌سازند نسبت به سلول‌های دیگر بسیار بیشتر است. بطوریکه در حالیکه در سلول‌هایی که این آنزیم را بطور فعال می‌سازند تعداد *mRNA* های فوق به 50 مولکول می‌رسد ولی در سلول‌های دیگر تعداد *mRNA* بطور متوسط در هر سلول به کمتر از یک می‌رسد.

