# 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 $\gamma$-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 $\gamma$-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

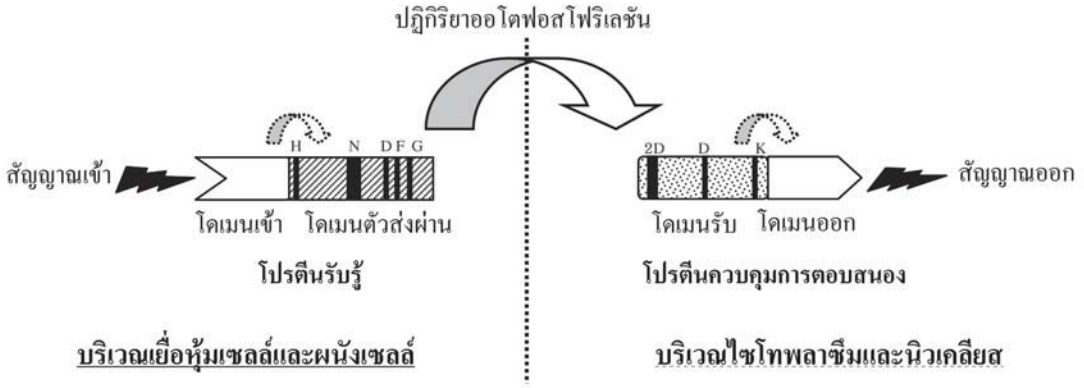
**องค์ประกอบของระบบส่งสัญญาณแบบสององค์ประกอบ**

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) เพื่อเริ่มต้นการถอดรหัสของยีนจำเพาะที่อยู่เดียวหรือยีนจำเพาะที่อยู่ในโอเพรอน (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 $\alpha/\beta$-บาร์เรล ($\alpha/\beta$-barrel) โดยที่บริเวณใกล้ตอนกลางจะเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาออโตฟอสโฟริเลชั่นของระบบ และที่บริเวณใกล้ปลายอะมิโนของโดเมนรับนี้จะมีกรดอะมิโนแอสพาเตท (D) เป็นองค์ประกอบหลักและมีการอนุรักษ์สูงในทุกระบบ ขณะที่ตรงบริเวณปลายคาร์บอกซิลจะมีความหลากหลายในแบคทีเรียแต่ละชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับความยาว

ของลำดับกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบนั้นๆ จึงทำให้สามารถนำสมบัตินี้มาใช้ในการจัดจำแนกโปรตีนควบคุมการตอบสนองได้เป็นกลุ่มต่างๆ กันออกไป นอกจากนี้กรดอะมิโนไลซีน (K) ที่ปลายคาร์บอกซิลของโปรตีนควบคุมการตอบสนองนี้ยังสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงรูปของโดเมนรับในขณะเกิดปฏิกิริยาฟอสโฟริเลชั่นให้สามารถเข้าจับกับบริเวณตัวส่งเสริมบนสายดีเอ็นเอและกดดัน (repression) หรือกระตุ้นการถอดรหัสของยีนเป้าหมายที่รับผิดชอบต่อการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกของแบคทีเรียให้เกิดได้ง่ายขึ้นอีกด้วย (Parkinson & Kofoid, 1992) อย่างไรก็ตามในแบคทีเรียบางชนิด ลำดับกรดอะมิโนที่โดเมนรับอาจมีโครงสร้างการจัดเรียงตัวที่แตกต่างกัน ส่งผลให้เกิดกลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนที่ต่างกันออกไป 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

$ATP + His \leftrightarrow ADP + His\sim P$ *สมการที่ 1*

$His\sim P + Asp \leftrightarrow His + Asp\sim P$ *สมการที่ 2*

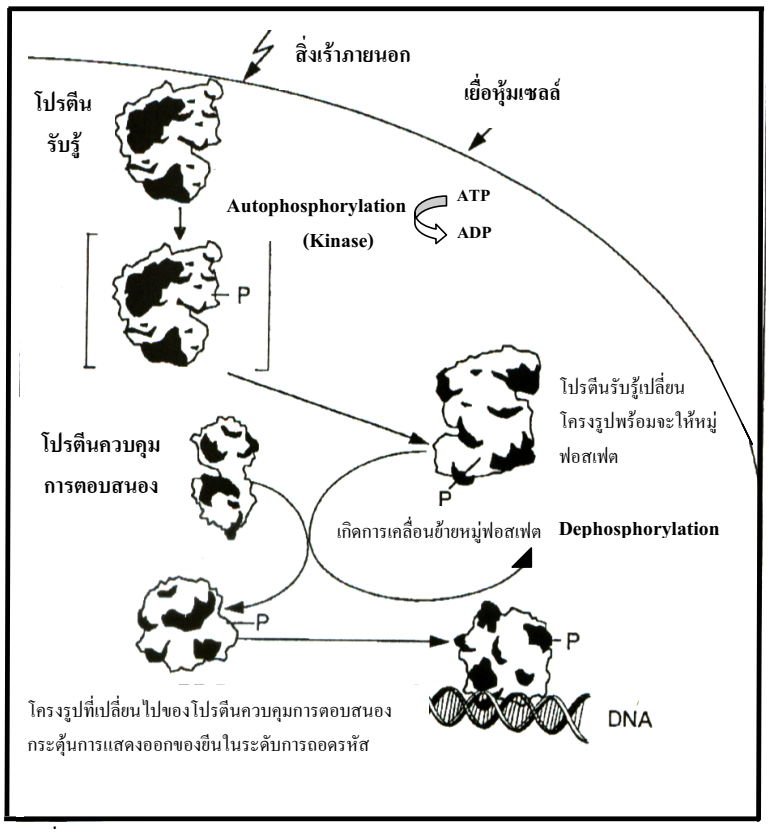
$Asp\sim P + H_2O \leftrightarrow Asp + Pi$ *สมการที่ 3*

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**

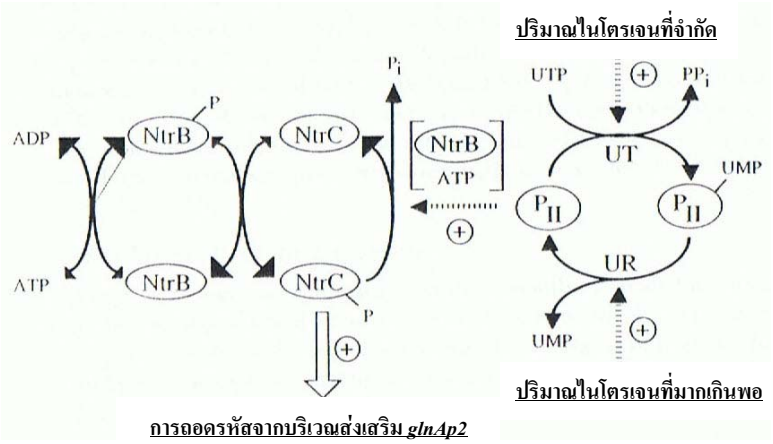
เอนเทริกแบคทีเรีย (enteric bacteria) บางชนิด เช่น *E. coli* หรือ *Salmonella typhimurium* สามารถตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนโตรเจนในสภาวะแวดล้อมได้โดยใช้ระบบสององค์ประกอบในการควบคุมการถอดรหัสของยีน *glnA* ที่แสดงออกเป็นเอนไซม์กลูตามีนซินทีเทส (glutamine synthetase) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์กรดอะมิโนกลูตามีน (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 ($\sigma^{54}$) 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 ($\alpha$-ketoglutarate) ที่อยู่ภายในเซลล์ และมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ UT, UR และ $P_{II}$ ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาการถ่ายโอนหรือการกำจัดยูริดิลิวต่อไป โดยทั่วไปเมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะที่มีปริมาณไนโตรเจนที่จำกัด ระดับของแอลฟาคีโตกลูตาเลทที่เพิ่มขึ้นจะไปกระตุ้นปฏิกิริยาการถ่ายโอนยูริดิลิวของ$P_{II}$ 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