

کنترل جذب، اسیمیلاسیون و متابولیسم سولفور

سولفور به صورت سولفات از ریشه ها جذب می شود و همچنین اغلب به صورت سولفات در گیاه توزیع می گردد (قبل از اینکه در ترکیبات گوگردی شرکت کند). جذب و اسیمیلاسیون سولفات با کده بندی کنترل می شود.

مهم ترین مخزن سولفور سنتز آمینواسیدهای سیستمی و متیونین مورد نیاز برای سنتز پروتئین هستند. این مسئله بیانگر محتوای غیرمحلول گوگرد در بافت های گیاهی است نسبت گوگرد به نیتروژن ۱:۲۰ است.

در موارد خاص این نسبت تغییر می کند برای مثال در سنتز ذخایر پروتئینی غنی از گوگرد میزان دسترسی به آن این نسبت را تغییر می دهد.

علاوه بر این مخازن دیگری برای سولفور وجود دارد مثل: سولفولیپید ها، گلیکوزینلات ها و آلین ها.

سولفور می تواند به طور سولفاتی نیز در گیاه باقی بماند در این صورت واکوئل ها هنگامی که سولفور مازاد تجمع یابد آن ها را در خود جای می دهند این سولفات تجمع یافته بیانگر کنترل متابولیسم آن است.

از نقطه نظر سیم پلاستی جذب سولفور و کاهش اسیمیلاسیون سولفات ممکن است به عنوان یک مسیر مستقیم برای سنتز سیستمی در نظر گرفته شود که توسط عرضه و تقاضا کنترل می شود.

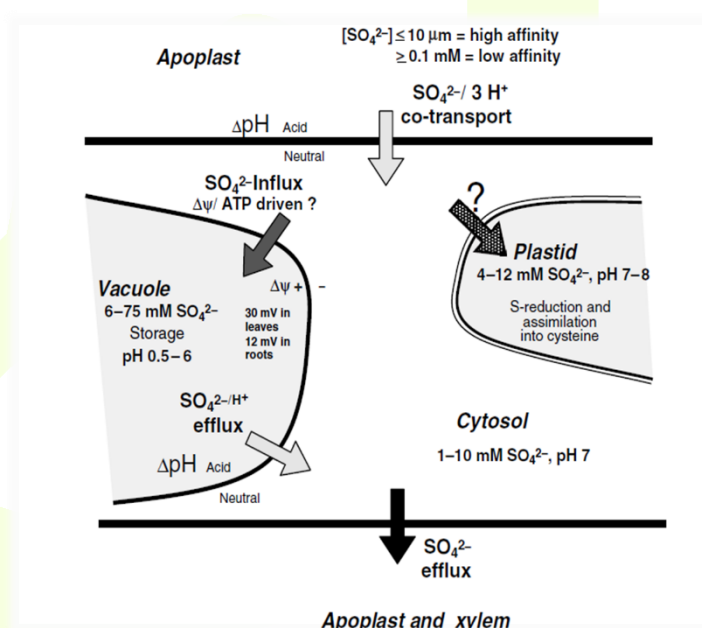
البته مسیرهای متابولیسمی و ذخایر دیگری نیز در گیاه وجود دارد. تنظیم ژن های دخیل در متابولیسم گوگرد توسط بیان برخی از ژن های فلاونوئید، اکسین و جاسمونات ها صورت می گیرد که خود تحت تاثیر سطح سولفور قرار می گیرند.

آزاجا که سولفات منبع اصلی گوگرد در گیاهان است جذب، ذخیره و متابولیسم سولفات از نکات حائز اهمیت است. از مهم ترین این ها، ترنسپورترهای غشایی هستند که توسط خانواده های زنی رمز گذاری می شوند.

بسیاری از این ژن ها توسط مکانیسم های نسخه برداری و پساترجمه ای تنظیم می شوند. انتقال سولفات مهم ترین جنبه را در اسیمیلاسیون سولفور دارد. اگرچه این جریان توسط مکانیسم های فیدبک نیز کنترل می شوند که می توان فیدبک مخزن را مثال زد.

حرکت ترانس ممبرانی سولفات، نیروی محرکه مکانیسم های سیتوپلاسمی، واکوئلی، پلاستییدی، میزان اسیدیته تونوپلاست است. شکل جذب کوترنسپرت پروتون سولفات را بر روی غشا نشان می دهد.

شکل ۱-۱۳



مکانیسم های تنظیمی مهم کنترل متابولیسم سولفور:

- جذب سولفات و توزیع آن شامل لودینگ و متابولیسم واکوئلی
- سولفات در مسیراحیای اسیمیلاتوری
- تنظیم تقاضا توسط نیتروژن و ظرفیت فتوسنتزی

کنترل نسخه برداری نقش مهمی در کنترل فرآیند در پاسخ به عرضه و تقاضای سولفور بازی می کند.

در ریشه ها وقتی تقاضا بالا می رود بیان ژن ناقلین به بیشترین حد خود می رسد. متقابلاً وقتی عرضه ی سولفور مازاد باشد بیان این ژن ها کاهش می یابد. و با بازچرخ سریع ناقلین پروتئینی ظرفیت انتقال کاهش می یابد.

سولفات تقریباً به طور کل توسط واکوئل جذب میگردد. تعدیل جریان از واکوئل تا دیواره سلولی و تا کلروپلاست بخش اسیمیلاسیون احیا است که نقش تعیین کننده ای در کنترل دسترسی به مسیر اسیمیلاتوری دارند.

در کلروپلاست کنترل جریان توسط ATP فسفریلاز و یا احیای APS ردوکتاز (APR) صورت می پذیرد.

کنترل این مرحله در سطح نسخه برداری و یا با کمک آنزیم های تنظیمی اتفاق می افتد. تمام مکانیسم ها به سیستمین، گلوکاتایون، سولفید، اُستیل ال سرین (اُ استیل سرین) مربوط می شود. که تمرکز اغلب بر روی سیستمین است به ویژه اگر جذب نیتروژن و فعالیت آنزیمی مسئول سنتز سیستمین باشند.

نقاط کنترلی دیگری نیز در مسیر وجود دارد کنترل جریان مخزن توسط گلوکاتایون، فیتوکلالتین، متیونین و یا سولفید ها انجام می گیرد که تنظیم توسط این ها ترکیبی از مکانیسم های نسخه برداری و پساترجمه ای می باشد که انطباق عرضه و تقاضا را در بردارند.

مسیرهای اصلی اسیمیلایون گوگرد

جذب و توزیع سولفات

مرحله آغازین انتقال در گیاه شیب غلظت محلول رقیق خاک است و علاوه بر این یک مرحله فعال وابسته به غلظت پروتون نیز وجود دارد. بعد جذب سولفات باید بر روی غشاهای متوالی ادامه یابد و در سلول های گیاه بخش شود. این انتقال مبتنی بر انرژی است.

بعلاوه ی این ها جذب اپیدرمی و بعدا انتقال به سلول برای کده بندی سولفات در پلاستیدها و واکوئل و یا انتقال به لانگ دیستنس نیز وجود دارد.

در بررسی هایی که بر روی *stylosanthes hamat* صورت گرفت بسیاری از ژن های دخیل در جذب سولفات شناسایی شدند. توالی فیلوژنی ژن های دخیل در انتقال سولفات مربوط به ۵ خانواده ژنی مرتبط می باشند که نقش های مهمی در ترنسپورت سولفات و کنترل متابولیسم گوگرد دارند. ژن یکی از ناقلین آنیونی سولفات ها SLC26 است که حداقل شباهت را با سایر ژن های ناقلین دارد. ناقلین ۱،۲،۳ بر روی پلاسماممبران قرار دارند.

پیوستگی بیان ژن به وضعیت تغذیه ای گیاه بستگی دارد که عملکرد گروه های مختلف ناقلین را نشان می دهد. گروه ۱ و ۲ از ناقلین از نظر کینتیک حمل و نقل باهم تفاوت دارند. گروه ۱ تمایل در $Km=1-1/5$ تمایل شدیدی به سولفات نشان می دهد در حالیکه گروه دوم ناقلین در $km=1.2-1.99$ تمایل کمی به سولفات دارند. در

مورد گروه ۳ نیز داده ها فقط مربوط به SULTURE3;5 در گیاه اراییدوبسیس است. بیان این ژن به تنهایی در آراییدوبسیس با در مخمر CP154-7b رخ نداد اما وقتی SULTR2;1 بیان شد Vmax افزایش یافت که نشان دهنده ی بیان SULTRE3;5 بود پس sultre 1;2 بر ۳;۵ اثر دارد. بیان ناقلینی که میل ترکیبی بالایی به سولفات دارند sultre1;1 و ۱;۲ در نوک ریشه آراییدوبسیس و اپیدرم ریشه اراییدوبسیس نشان داد که این ناقلین در جذب اولیه سولفات از خاک نقش دارند.

آنتی سنس و موتانت sultre1;2 و ۱;۱ در اراییدوبسیس و مطالعات هموزیگوتی در گوجه و جو این یافته ها را تایید نمود.

ناقلان سوم گروه ۱ که میل ترکیبی شدیدی به سولفات دارند (sultre1;3) در سول های همراه اراییدوبسیس واسطه ی توزیع مجدد سولفات در اندام های منبع و مخزن است.

دو ناقل گروه دو که تمایل کمی به سولفات دارند به طور انحصاری در بافت های آوندی بیان می شوند. که نشان دهنده ی دخالت ناقلین در جابجایی آوندی سولفات است.

گروه چهارم ناقلین سولفات در تونوپلاست جای دارند با آنالیز موتانت آراییدوبسیس مشخص شد که ژن های این ناقلین (Sultre4;2 و sultre4;1) به شدت در جریان انتقال سولفات معدنی از واکوئل تا سیتوسل نقش دارند.

یکی از ناقلین گروه ۵ نیز در تونوپلاست قرار دارد گمان می رود در جذب سولفات نقش ایفا کند.

سولفات واکوئلی ذخیره شده نقش مهمی در هموستازی سلولی سولفات و در دسترس بود آن در مسیر اسیمیلاتوری دارد.

کنترل های پسا ترجمه ای

ناقلین سولفور در گیاهان و جانوران از نظر ساختمانی حفاظت شده اند و پایانه های C آن ها شباهت زیادی به پروتئین های آنتی آنتی سیگما SPOLLAA در ناحیه ی STAS در BACILLUS SP دارد. اگرچه عملکرد دقیق STAS هنوز مشخص نشده است. موتان های ناحیه ی STAS در ناقلین سولفور انسان منجر به ایجاد بیماری های جدی می شود. مطالعات بر روی STAS آراییدوبسیس در مورد ناقلینی که میل ترکیبی بالایی دارند و ناقلین شیمریک نشان می دهد که ناحیه STAS روی غشا قرار دارد. و ثبات غشای پلاسمایی برای تنظیم فعالیت ناقل اهمیت دارد. ناقل سولفور در آراییدوبسیس SULTRE 1;2 با یک ناحیه STAS حذف شده قادر به انتقال سولفور در موتانت مخمر cp154-7b نبود.

انتقال ناحیه ی STAS در ناقلین سولفاتی که این ناحیه در آن ها حذف شده بود دوباره عملکرد را به آنها بخشید. اگرچه کینتیک جذب سولفات بستگی به ناحیه ی STAS دارد بخاطر اینکه در ناحیه ی STAS بین ناقلین مختلف سولفات در آراییدوبسیس تفاوت وجود دارد. این نتایج نشان می دهد که ناحیه ی STAS به طور مستقیم یا غیر مستقیم برای تسهیل حمل و نقل غشایی ضروری است اما بنظر می رسد بر کنتیک کاتالیتیکی ناقلین نیز موثر باشد.

جابجایی در سایت فسفریلاسیون Thr-587 منجر به از دست رفتن کامل عملکرد ناقل سولفات sultre1;2 در آراییدوبسیس شد. مدلسازی سه بعدی و آنالیز موتاسیونی این فرضیه را که ناحیه STAS در اینتراکشن پروتئین پروتئین می تواند انتقال سولفات را کنترل کند قوت بخشید. تعامل پروتئین پروتئین برای ناقل سولفات در آراییدوبسیس برای ایزوفرم های sultre1;2 و sultre3;5 نیز به طور مشابهی مشاهده گردید. شواهدی برای تنظیمات پساترجمه ای در انتقال سولفات مانند فراوانی رونوشت ناقلین با میل ترکیبی بالا در شرایط کمبود سولفات وجود دارد. در برخی موارد افزایش فعالیت در پاسخ به کمبود گوگرد با افزایش موقتی mRNA در پاسخ به استرس مشاهده شده است.

مسیراسیمیلاتوری- فعالیت و کاهش

سولفور به صورت اکسید شده و به صورت احیا شده در سیتوسل و پلاستید به ترتیب جذب می شود. برای تسهیل جذب برخی از آنزیم های جذب گوگرد در سلول ها وجود دارند. سولفات معدنی را که نیاز به فعال شدن از طریق تشکیل δ' -adenylylsulfate (APS) دارد که تنها نقطه ورود سولفات به مسیر متابولیسمی است. فعال سازی این واکنش توسط آنزیم ATP سولفوریلاز کاتالیز می شود.

مسیر سیتوسلی

اگر سولفات به فرم اکسید شده در آید برای استحکام استری کردن ترکیبات پلی ساکاریدی، فلاونوئیدهای سولفات، براسینواسیدها، گلیکوزینلات ها و... مورد استفاده قرار می گیرد. تمام سولفوترانسفرازهایی که استری کردن سولفات را انجام می دهند آنزیم های سیتوسلی می باشند که نیاز به سولفات فعال در سیتوزول دارند که در فرآیند دومرحله ای فعال سازی شامل ایزوفرمهای سیتوسلی ATP سولفوریلاز و فسفریلاسیون APS تولید شده توسط APS کیناز به $3'$ -فسفوادنوزین $5'$ -فسفوسولفات (PAPS) به دست می آید. سوبسترای واکنش سولفوناسیون توسط سولفوترانسفراز ها کاتالیز می شود. بطور کلی ۱۸ ژن سولفوترانسفراز در ارابیدوبسیس شناخته شده است که مکان آنها در داخل سلول ها است اما عملکرد این ایزوفرم ها هنوز مشخص نیست. در ارابیدوبسیس ۴ ژن APS کیناز وجود دارد که دوتای آنها احتمالاً در پلاستید جای داشته باشند. ویژگی یکی از این ایزوفرم های پلاستی (AKN1) نشان می دهد که میل ترکیبی بسیار بالایی به سوبسترای خود دارد APS در غلظت های پایین ATP مهار میشود. همچنین توسط ردوکس ماژول می شوند عملکرد APS کیناز های پلاستی چندان واضح نیست زیرا بیشتر استرهای سولفات در سیتوزول سنتز می شوند و سنتز سولفولیپیدا (سلفی کوئیناسیل گلسیرید) نیاز به APS دارد نه PAPS.

اسیمیلایسیون احیا در پلاستید:

فعالسازی سولفات توسط ATP سولفوریلاز:

بیشتر سولفات ها به شکل سولفید احیا می شوند و به عنوان گروه تیول در گروه سیستمین به مشارکت می پردازند. ۸ الکترون برای احیای SO_4 به S^{2-} نیاز است. در گیاهان آوندی APS توسط APS ردوکتاز به سولفیت احیا می شود که متعاقبا توسط سولفید ردوکتاز به سولفید احیا می شود تا توسط سیستمین تشکیل دهنده ی تیول لیاز در ترکیب اُ استیل سرین مشارکت کند.

پلاستید شامل تمام آنزیم های ضروری برای احیای سولفات و سنتز سیستمین و تعیین مکان انحصاری آنزیم APS ردوکتاز می باشد. در نتیجه سولفات حتما باید به پلاستید منتقل شود تا احیا گردد چون پلاستیدها محل اجباری احیا می باشند. با این حال مکانیزم ناقلین مسئول ورود سولفات به درون پلاستید هنوز شناسایی نشده است.

در اراییدوبسیس سه ایزوform ATP سولفوریلاز در پلاستید شناسایی شده اند علاوه بر این ایزوform های سیتوزولی برای نوع چهارم نیز شناسایی شده است. آزمایشات سلولی نشان می دهد که ایزوform های سیتوزولی و پلاستیکی ATP سولفوریلاز به طور متفاوتی هنگام توسعه تنظیم میگردند. فعالیت ایزوform های پلاستیکی با افزایش سن کاهش می یابد و متقابلا ایزوform سیتوزولی با توسعه فعالیتش افزایش می یابد. فعالسازی سولفات یک مرحله ی محدود کننده در مسیر اسیمیلاسیون است فوق بیان ATP فسفریلاز پلاستیکی کدگذاری شده با ژن APS ۱ در خردل هندی تقریبا ۲/۵ برابر فعالیت بیشتری دارد.

با افزایش احیای سلنات گیاهان ترانسژنیک مقدار بیشتری از سولفور و گلوکاتینون را از خود نشان می دهند

با فوق بیان ژن APS ۲ پلاستیکی در آراییدوبسیس ATP سولفوریلاز با ۸ برابر فعالیت بیشتر به دست آمد. در سوسپانسیون زرد تنباکو در محیط کشت گیاه تنباکو توسط میزان سولفات و متابولیسم گوگرد تحت تاثیر قرار نگرفت. این مسئله نشان می دهد که آنزیم توسط محصولات بعدی مسیر اسیمیلاتوری سولفات به طور شدیدی کنترل می شود.

احیای سولفات توسط APS ردوکتاز:

مطالعات بیوشیمیایی در invitro نشان داد که آنزیم APS ردوکتاز APR ۱ در اراییدوبسیس با اکسیداسیون و از طریق تشکیل پیوند دی سولفیدی در ناحیه تیرودوکسین خود فعال می شود. آنزیم APR ۱ وقتی در *Escherichia coli* فاقد تیرودوکسین ردوکتاز (trxB) فعال می شود نسبت به نوع وحشی trxB (+) وحشی

۴۵ بار فعال تر است. این آنزیم در invitro با تیمار احیای دی سولفیدی غیرفعال و با تیمار اکسیداسیون های تیول دوباره فعال می شود. تیمار گیاهچه های اراییدوبسیس با گلوکاتینون یا پاراکوات اکسید شده فعالیت APS ردوکتاز را القا کرد حتی وقتی که نسخه برداری یا ترجمه توسط بازدارنده ها بازداری گردید باز توانایی القا داشت. نتایج نشان می دهد که مکانیسم های پساترجمه ای APS ردوکتاز را کنترل می کنند. کنترل ردوکس در APS ردوکتاز باعث خود تنظیمی آن و کنترل سنتز گلوکاتینون می شود.

APS ردوکتاز بیشترین سهم را در کنترل مسیر داخل سلولی دارد.

به طور کلی ATP سولفوریلاز و APS ردوکتاز در تمام سلول های فتوسنتزی گیاهان ^۳C بیان می شود اگرچه این دو در تک لپه ای های C_۴ ، به طور انحصاری در سلول های غلاف اوندی قرار دارند. از آنجا که mRNA ی Aps ردوکتاز در *flaveria trineravia* در مزوفیل و غلاف اوندی شناسایی شد به نظر می رسد که این ویژگی غلاف اوندی محدود به تک لپه ای های C_۴ باشد.

علاوه بر بافت های فتوسنتزی در ریشه نیز بیان و فعالیت ATP سولفوریلاز و APS ردوکتاز در ریشه نیز مشاهده شده است. علاوه بر قارچ ها و باکتری های روده مانند *E.coli* و *Salmonella typhimurium* سولفات ردوکتاز در گیاهان آوندی نیز وجود دارد.

در این گونه های باکتریایی APS توسط APS کیناز به PAPS فسفریله می شود تا در یک واکنش وابسته به تیرودوکسین توسط APAPS ردوکتاز احیا شود و سپس در دومین مرحله احیا سولفیت توسط سولفیت ردوکتاز وابسته به NADPH به سولفید احیا گردد. وجود مسیر وابسته به PAPS در گیاهان مدت های مدیدی است که مورد توجه واقع شده است ژن PAPS ردوکتاز در ژنوم اسفناج شناسایی شده است اما در اراییدوبسیس و برنج هیچ ژن همولوگ مشابه PAPS باکتریایی بجز APS ردوکتاز مشاهده نشده است.

موتانت ناک اوت شده ی APS ردوکتاز خزه در محیط حاوی سولفات که منبع گوگردی است هنوز قادر به ادامه ی رشد می باشد. آنزیم PAPS ردوکتاز خزه با آنزیم باکتریایی تفاوت دارد زیرا فاقد ناحیه ی تیرودوکسین و پپتید هدف پلاستییدی است که نشان می دهد APS و PAPS وابسته به اسیمیلایسیون سولفات در کلروپلاست *Physcomitella* وجود دارد.

تنظیم و هماهنگی رونویسی با مسیریهای C و N فقدان سولفات باعث افزایش بیان ژن حداقل دو ایزوفرم ATP سولفوریلاز پلاستییدی و سه ایزوفرم APS ردوکتاز در آرابیدوبسیس می شود. علاوه بر این دو ایزوفرم ATP سولفوریلاز سیتوزولی و چهار ایزوفرم پلاستییدی در آرابیدوبسیس توسط میزان گوگرد تنظیم نمی شود. داده های دیگر از گیاهان دیگر نیز این موضوع را تایید می کنند. پاسخ ناقل های سولفات به فقدان سولفات و همچنین بیان ژن و فعالیت ATP سولفوریلاز و APS ردوکتاز توسط کمبود نیتروژن دان رگولیت میشود و یا با کاربرد نیترات تحریک می شوند. علاوه بر نقش نیترات در تنظیم اسیمیلایسیون سولفات ، کربن نیز می تواند نقش داشته باشد.

بیان ژنهای ناقل سولفات و APS ردوکتاز توسط نور القا می شود القایی که با افزودن استیل سرین (OAS) و همچنین با افزودن ساکارز یا گلوکز به محیط نیز رخ می دهد. گلوکز/ساکارز انتقال نیترات و آمونیوم را القا می کند همانطور که با اسیمیلایسیون سولفات و نیترات باهم رابطه دارند. القا توسط OAS از استات و ال سرین به وسیله آنزیم سرین استیل ترانسفراز تشکیل می شود و متعاقبا یک سوپسترا برای سنتز سیستمین ارتباطی بین احیای سولفات با کربوهیدرات و متابولیسم نیتروژن ایجاد می کند و OAS به عنوان یک مولکول سیگنال این سه مسیر را هماهنگ سازی می کند.

آزمایشات تغذیه ای نشان داد که تنظیم ناقل سولفات و بیان ژن APS ردوکتاز توسط قند مستقل از تنظیم OAS انجام می گیرد که ممکن است بیانگر این موضوع باشد که سیگنال های متابولیسم نیتروژن و کربن به صورت سینرژیک عمل می کند و این سیگنالینگ مثبت قند می تواند سیگنالینگ منفی اسیمیلایسیون نیترات را بی اثر کند. برخلاف اثرتنظیمی مثبت OAS سیستمین و گلوکاتیون به عنوان تنظیم کننده های منفی عمل می کنند. گلوکاتیون یک سیگنال فلوئمی است که ژن های اسیمیلایسیون

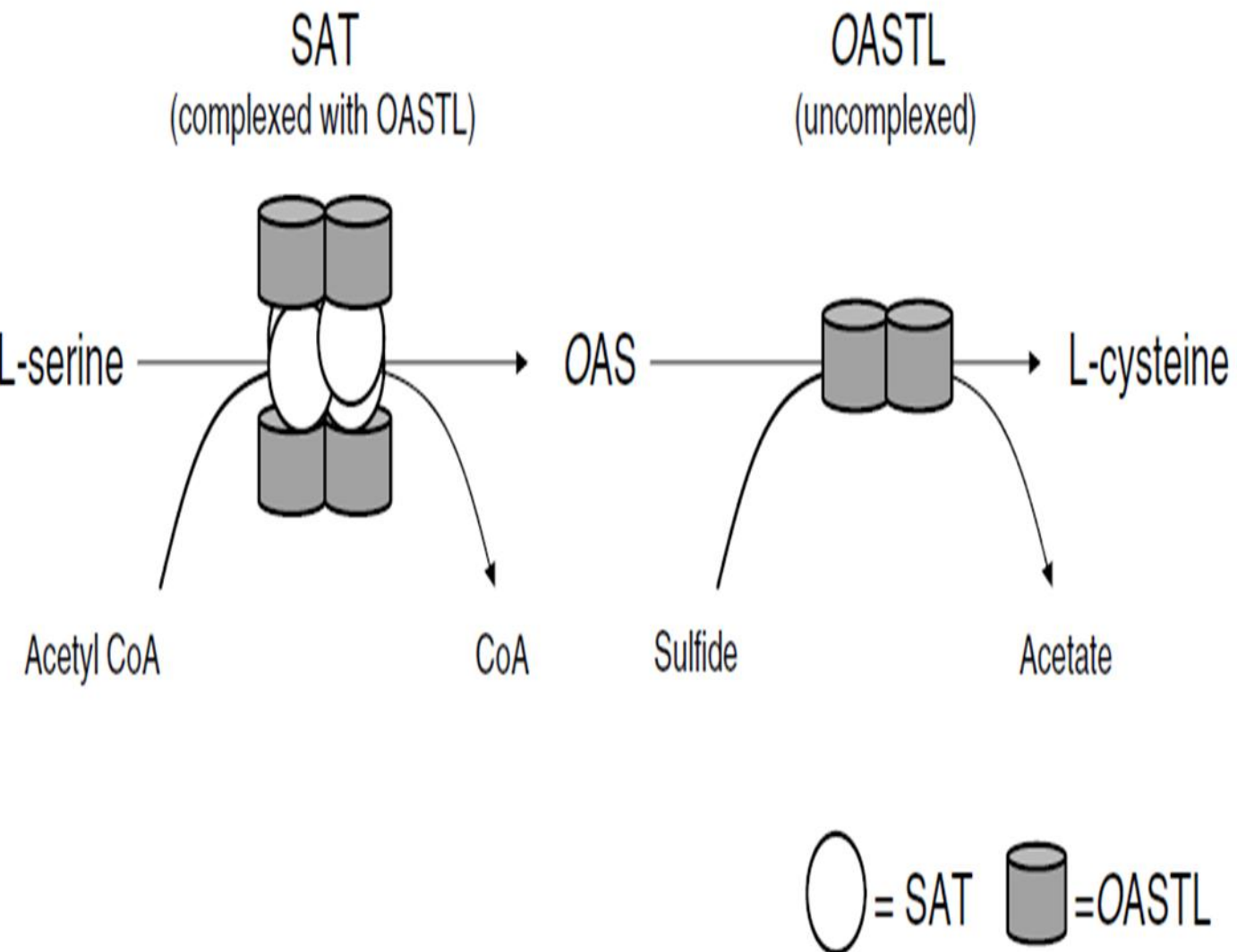
سولفور را سرکوب می کند. از طرف دیگر مشاهدات ظرفیت جذب سولفور در براسیکا نشان می دهد که سیگنالینگ ساقه به ریشه در کنترل مسیر بعدی است که توسط اندازه ذخایر تیول واسطه گری می شود در عوض ممکن است که غلظت سولفات اثر تعیین کننده ای بعنوان سیگنال مستقیم یا غیرمستقیم داشته باشد. انتقال سولفات و اسیمیلایون آن در گیاه ممکن است توسط هورمون ها نیز تنظیم شوند آنالیز ترنسکریپتوم نشان داد که اکسین و متیل جاسمونات در پاسخ به تنش کمبود گوگرد دخیل هستند سیتوکنین بیان ژن ناقلین سولفات با میل ترکیبی بالا را در ریشه آرابیدوبسیس دان رگولیت می کند. اما سیتوکنین در پاسخ به وضعیت گوگرد تغییر معنی داری نمی کند.

۱۴-۳ کنترل شار (جریان) توسط مسیر اسیمیلایون-سنتز سیستمین

تنظیم رونوشتی مسیر اسیمیلایون سولفور را کنترل می کند ولی یک کنترل متابولیک دقیق تر در سطح بیوسنتز سیستمین وجود دارد. این مکانیسم کنترلی در تنظیم سلولی در بسیاری از شرایط اهمیت دارد. کنترل رونوشتی و کاتالیکی با ذخایر متابولیکی در ارتباط هستند.

بیوسنتز ال سیستمین در گیاهان با دو آنزیم صورت می گیرد: SAT و OASTL که کمپلکس آنزیمی تشکیل می دهند. آنها نقش کلیدی در سنسینگ وضعیت تغذیه ای گوگرد در سلول دارند. همانطور که در شکل ۱۳/۳ مشاهده می کنید اولین آنزیم (SAT) آمینوآسید ال سرین را با استفاده از استیل کوانزیم A استیله می کند تا قبل از ترکیب استیل سرین با سولفید، سولفات احیا شده را در مسیر به فرم سیستمین بسازد. بیوسنتز سیستمین اولین بار در اشرشیا کولای و S.typhimurium شناسایی شد که در آنها کل فرآیند جذب گوگرد و احیای آن توسط تنظیم Cys با حداقل ۱۶ ژن کنترل می شود. یک آنزیم واحد SAT (cys E) و دو آنزیم OASTL (cys/ M) مسئول سنتز سیستمین هستند. در گیاهان این وضعیت بسیار پیچیده تر است فعالیت SAT و OASTL (برخلاف آنزیم های قبلی در مسیر اسیمیلایون احیای سولفات) در سیتوپلاسم میتوکندی و کلروپلاست صورت می پذیرد. ژنوم آرابیدوبسیس دارای ۵ ژن SAT و دو آنزیم OASTL می باشد. سه تا از ژن های OASTL بنظر می رسد که در سنتز سیستمین دخیل باشند و سه ژن مرتبط با آن در سنتز سیانوالانین نقش دارند.

محصولات این سه ژن توسط پپتیدهای N ترمینال (نشان گذاری شده) به سیتوسل یا کلروپلاست/ماتریکس میتوکندری هدایت می شوند.



شکل ۳-۱۳

کمپلکس سیستئین سنتاز:

تلاش های اولیه برای خالص سازی SAT از گیاهان نشان داد که فعالیت با همکاری پروتئین ۳۰۰ کیلودالتونی صورت می پذیرد. که ممکن است در حضور استیل سرین

به زیرواحدهای کوچک تر خود تجزیه گردد. درواقع یک مولکول هموتترامریک SAT با دو مولکول همودایمر OASTL در یک کمپلکس سیستمین سنتاز مشارکت دارند. رابطه ساختمانی بین SAT و OASTL در کمپلکس CS با استفاده از سیستم yeast twohybrid شناسایی گردید. این آزمایشات نشان داد که ناحیه پایانه C در پروتئین SAT که همچنین دارای دامنه ترانسفراز فعال است مسئول برهمکنش SAT با OASTL و با برهمکنش SAT/SAT است که در ناحیه ی مرکزی فنی انجام می گیرد.

کنترل متابولیک سیستمین سنتاز:

نسبت OASTL به SAT در گیاهان نزدیکی به ۱:۳۰۰ است فعالیت آنها نیز تقریباً به همین میزان است.

در عصاره سلولی با فوق بیان پروتئین های نو ترکیب در باکتری مشخص شد که SAT تنها هنگامی فعال است که با OASTL L کمپلکس تشکیل دهد بر خلاف این OSTAL زمانی که به صورت غیرکمپلکس باشد بیشترین فعالیت را دارد. اکثر OASTL ها بعنوان یک یک دایمر فعال آزاد شناخته می شوند و فقط بخش کوچکی از آنها در کمپلکس با SAT است. این یافته ها تایید کرد که بیشتر استیل سرین از کمپلکس CS رها می شود تا اینکه SAT به OASTL بپیوندد. بنابراین به نظر می رسد که OASTL به عنوان یک فاکتور تنظیم کننده برای فعالیت های SAT از کمپلکس دوتایی آنزیم نقش ایفا می کند تا اینکه نقش کاتالیزوری داشته باشد. نقش تنظیمی کمپلکس CS در کنترل تولید سیستمین و جذب گوگرد توسط مطالعه زیرواحدهای کمپلکس در حضور سوبسترا مشخص گردید کمپلکس در حضور سولفید پایدار بود و در حضور استیل سرین مختل گردید / کمپلکس بعنوان یک سنسور وضعیت گوگرد در سلول ها با کنترل فعالیت SAT با تعادل متابولیسم S و N بالانس می شود.

۳-۴-۱۳ کنترل فعالیت SAT با فیدبک سیستمین

علاوه بر کنترل فعالیت توسط مشارکت و تفکیک کمپلکس با OASTL ، SAT های گیاه نیز نشان می دهند که به فیدبک بازدارنده توسط غلظت سیستمین حساس هستند. فعالیت SAT در لوبیا با یک میلی مولار سیستمین ۶۵ درصد بازدارنده شد و در

این غلظت در کلروپلاست اسفناج SAT بطور کامل بازداری گردید. بازداری همچنین در یک سیستم هترولوگ توسط بیان ژن SAT-A سیتوزولی در هندوانه دیده شد. بازداری فعالیت SAT تقریباً با ۳ میکرومولار در اشرشیا کولای نیز دیده شد. ارزیابی های بعدی از مهار خانواده ژنی SAT در Arabidopsis حساسیت های مختلفی را برای ایزوفرم های سیتوزولی ، کلروپلاستی و میتوکندریایی نشان داد. همانطور که در هندوانه ، ایزوفرم سیتوزولی Sat-c با غلظت میکرومولار سیستمین مهار شد ، اما فرم های کلروپلاستیک Sat-p و میتوکندری Sat-m غیر حساس هستند. با افزایش میزان SAT در آزمایش میزان بازداری نیز افزایش یافت مشخص شد که بجای اینکه حساسیت سیستمین به فرم سیتوسولی محدود شود یک تفاوت زیاد بین گونه ای وجود دارد. فعالیت SAT کلروپلاستی در نخود و اسفناج به غلظت سیستمین حساس بود اما فرم سیتوسولی و میتوکندریایی ایزوفرم ها غیر حساس هستند. وجود گلايسين در SAT هندوانه موتاسيون شده نشان داد که مسئول فیدبک بازداری سیستمین است. تمام گیاهان حساس به سیستمین و غیرحساس به SAT تایید می کنند که این آمینو اسید در پاسخ فیدبکی نقش دارد و تنها در ایزوفرم های حساس وجود دارد. تحقیقات اخیر نشان داده است که سیستمین با جداسازی کمپلکس CS موجب بازداری SAT می شود همانطور که استیل سرین این کار را انجام می داد منجر به تشکیل SAT غیرفعال می شود.

در باکتری ها نیز فرم های حساس به سیستمین SAT وجود دارد که در کنترل سنتز سیستمین در گیاه نقش دارند. اگرچه ایزوفرم های غیرحساس SAT ممکن است در کده بندی سلول با تقاضای سیستمین بالا در مخزن در گونه های تکامل یافته دیده شود.

۱۴-۴-۴ نقش O-acetylserine به عنوان "محرک" بیان ژن

علاوه بر توانایی O-acetylserine در کنترل فعالیت پساترجمه ای SAT با مختل کردن کمپلکس CS ، در گیاهان ، باکتریها ، ممکن است در تنظیم رونویسی بیان ژن نیز نقش داشته باشد. موقعیت کمپلکس سیستمین سنتاز در نقطه اتصال متابولیسم سولفور و نیتروژن و همان طور در متابولیت های آلی و غیر آلی، آن را به یک سایت مهم برای تنظیم متابولیسم گوگرد مبدل ساخته است. این کنترل اولین بار در

پروکاریوت ها دیده شد آنها مکانیزم فیدبکی ساده ای دارند که میزان مطلوب تولید سیستمین را با توجه به دسترسی به گوگرد و ملزومات سیستمین تنظیم می کند. در باکتریها، ژن SAT به طور بنیادی بیان می شود تا تولید O-استیل سرین را برای تبدیل به سیستمین توسط OASTL انجام دهد. O-acetylserine به عنوان یک مولکول القاءگر در تنظیم Cys جذب سولفات را افزایش یا کاهش می دهد. با این حال فعالیت آنزیمی SAT با میزان کم سیستمین با فیدبک بازداري میشود و منجر می شود رگولون CS با کاهش تولید استیل سرین در شرایط نیاز کم به سیستمین خاموش شود. این کنترل متابولیکی با پروتئین CysB که در محل پروموتور قرار می گیرد به منظور تسهیل یا بلاک پیوند RNA پلیمرز به ترتیب بسته به پیوند پروتئین به OAS و یا سولفید انجام می پذیرد. دانشمندان در مطالعات خود کنترل رونویسی به واسطه O-acetylserine در گیاهان را مشاهده کرده اند. O-acetylserine به عنوان یک عامل القاءگر جذب و احیا سولفات شناخته شده است، و همانطور که قبلاً نیز ذکر شد، منجر به افزایش فعالیت جذب، بیان و انتقال سایر مؤلفه های مسیر جذب می شود. احیای سولفات با کاربرد استیل سرین در تاریکی تحریک شد. با تاثیر استیل سرین به عنوان یک مولکول سیگنال، مسیر احیای سولفات از سیستم تیرودوکسین وابسته به نور آنکوپل می شود. کاربرد استیل سرین همچنین می تواند رونویسی ژن دخیل در جذب سولفات را افزایش دهد. با ATP سولفوریلاز فعال می شود و توسط APS ردوکتار احیا می گردد و همچنین پروفایل mRNA را زمان گرسنگی گوگرد در ارایدوبسیس کنترل می کند. بنابراین یک همبستگی بیم ژن های القاگر زمان فقر گوگرد و انهایی که با کاربرد استیل سرین القا می شوند وجود دارد که نشان دهنده اهمیت اصلی ذخایر متابولیتی است.

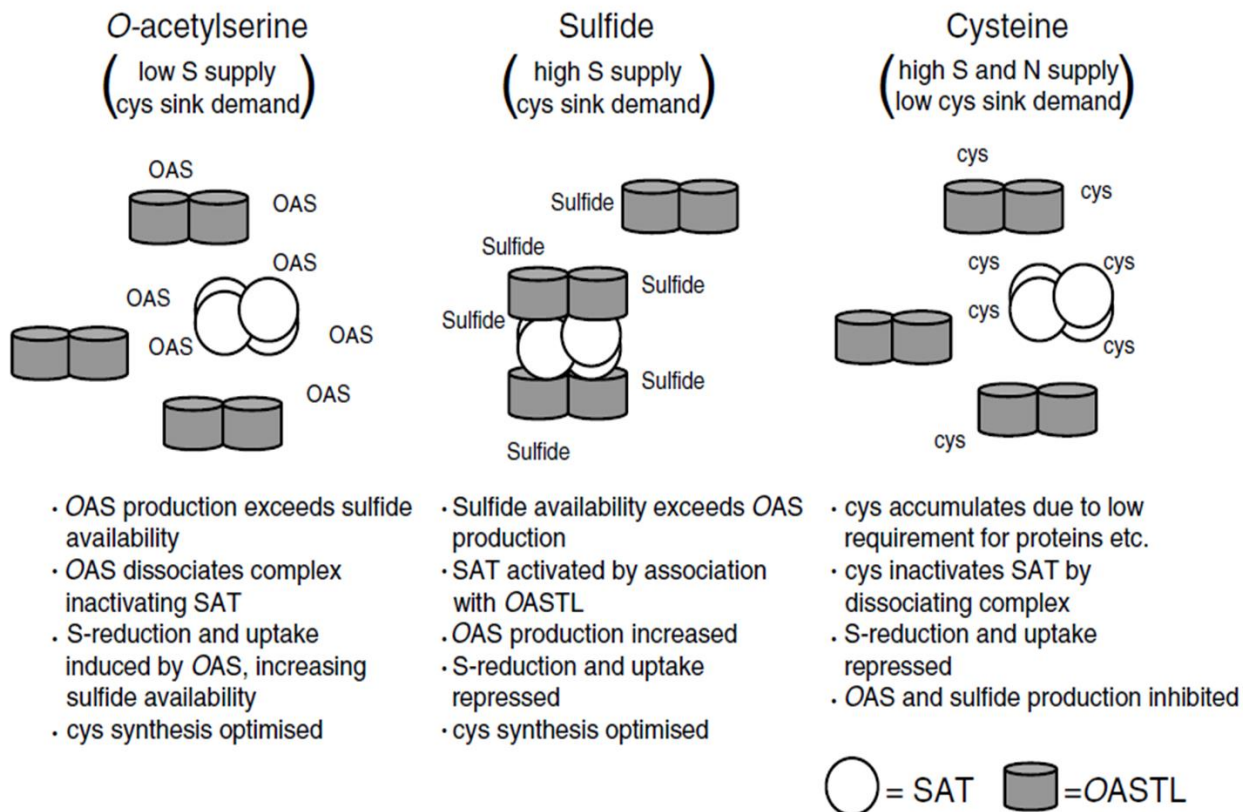
القای جذب سولفات در حضور سولفات با افزایش سیستمین و گلوکاتئون اتفاق می افتد. این داده ها از این ایده که استیل سرین یک مولکول سیگنال است پشتیبانی می کنند. علاوه بر این یک لاین موتاژن آرایدوبسیس که با تجمع زیاد استیل سرین بیان زن ناقلین و APS ردوکتار را افزایش داد. با این حال بیان تراریخته ی سرین استیل ترانسفراز cysE در سیب زمینی منجر به افزایش بیان ناقلین سولفور و APS ردوکتاز گردید که با تجمع سیستمین و گلوکاتئون و نه تجمع استیل سرین بیانشان افزایش یافته بود. آنالیز گیاهی در معرض مواد محدود کننده عرضه گوگرد نشان داد

که همبستگی ضعیفی بین بیان ژن ناقل سولفات و APS ردوکتاز با افزایش غلظت OAS وجود دارد. با جمع آوری داده ها پیشنهاد شد که افزایش مصنوعی استیل سرین باعث افزایش ورود سیستمین گردید. با فوق بیان OASTL در تنباکو بیوسنتز سیستمین محدود گردید. طی محدودیت گوگرد افزایش استیل سرین اتفاق می افتد بنابراین این ترکیب کاندید خوبی برای سیگنالینگ متابولیت ها نیست.

در مقابل در مخمر، کنترل ترجمه ای ژن های SUL و MET (که در کد نویسی اغلب ژن های جذب و اسیمیلایون سولفور نقش دارند) توسط غلظت اس اندوزیل متیونین (SAM;AdoMet) کنترل می شود و با کمپلکسی به پروموتور متصل است واسطه گری می شود.

۱۳-۴-۵ مدلی برای کنترل سنتز سیستمین

کمپلکس CS در مرکز کنترل جذب گوگرد و احیای آن و همچنین سنتز سیستمین است. این خصوصیت تنظیمی برای اطمینان از احیای سولفات و تولید استیل سرین مطابق با نیاز به سیستمین در کده بندی سلولی بهینه سازی می شود. این در نتیجه ی یک سیستم کنترل متابولیک واحد است که تقاضای سیستمین با تجمع سمی سولفید یا سیستمین تحت شرایط نوسان در میزان گوگرد و تغییر در متابولیسم نیتروژن بهینه سازی می شود. همانطور که در شکل ۱۳/۴ نشان داده شده است ، O-استیل سرین ، سولفید و سیستمین فعالیت SAT را با لینک / تفکیک کمپلکس CS همراه با اثرات مربوط به بیان ژن تنظیم می کند. از این رو کمپلکس CS با استفاده از سوبستراهای سولفیدی و O-acetylserine کنترل می شود تا از سنتز مطلوب سیستمین برای رفع نیازهای مخزن اطمینان حاصل شود.



شکل ۱۳-۴

مدتنظیمی به طور خلاصه:

۱. تجمع استیل سرین. هنگامی که گوگرد در دسترس نیست OAS کمپلکس CS را از هم جدا می کند تولید سولفید بعد از این توسط استیل سرین تجمع یافته تحریک می شود که ممکن است ژن رونویسی دخیل در جذب و احیای سولفید را القا کند.
۲. تجمع سولید. هنگامی که سولفید به مقدار زیادی در دسترس باشد کمپلکس CS هم افزایش می یابد SAT را فعال می کند که آن هم به نوبه خود باعث افزایش تولید استیل سرین برای سنتز مطلوب سیستمین می شود.

۳. تجمع سیستمین. هنگامی که تقاضای مخزن برای سیستمین (متیونین، پروتئین، گلوکاتایون و ویتامین ها) کم است، سیستمین تجمع می یابد و منجر به تفکیک کمپلکس CS می شود بنابراین تولید استیل سرین را کاهش می دهد. در نتیجه، جذب سولفات و احیای آن سرکوب می گردد و تولید سیستمین تا زمانی که سیستمین موجود باشد جلوگیری می شود.

۱۳-۵ کنترل جریان در سینک های مختلف بعد از بیوسنتز سیستمین

تخصیص سیستمین به مخازن متفاوت با قدرت این مخازن تعیین می شود. ورود به این مخازن با فعالیت گام های اختصاصی مسیر کنترل می شود که اغلب با حلقه های فیدبک محصولات مسیر در سطح رونویسی یا پسا ترجمه ای تنظیم می گردد.

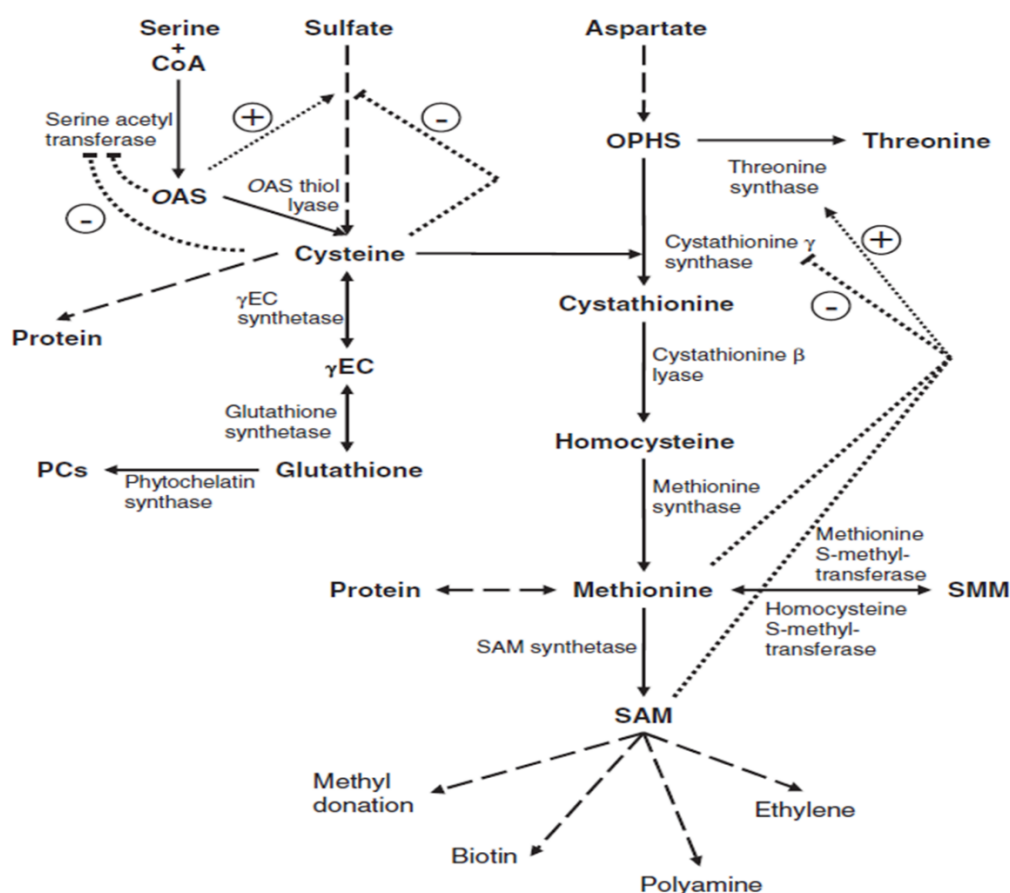
یک مسیر مهم که از سیستمین استفاده می کند بیوسنتز متیونین است. مخزن اصلی سیستمین و متیونین پروتئین ها هستند و قدرت این مخازن با دسترسی به نیتروژن و مواد فتوسنتزی تحت تاثیر قرار می گیرد.

گلوکاتایون یک مخزن مهم دیگر برای سیستمین است. محتوای سلولی گلوکاتایون ۰/۱ - ۰/۲ میلی مولار در سیتوسل و ۲-۴ میلی مولار در کلروپلاست است اما منوط به دسترسی به گوگرد در نهایت محدود می شود.

فاکتورهای تاثیر گذار بر نیاز به گلوکاتایون تاثیرات مهمی بر جریان های مسیر دارند. تقاضا برای گلوکاتایون بستگی به توسعه و تنش های محیطی دارد. گلوکاتایون فرم اصلی انتقالی داخل گیاه سیستمین است و ممکن است بعنوان یک ذخیره ی گوگرد احیا شده عمل کند. گلوکاتایون بخودی خود نقش مهمی در تنظیم ردوکس سلول دارد و بعنوان آنتی اکسیدان عمل می کند. سنتز در پاسخ به تنش ها یی مثل پاتوژن ها و تنش های اکسیداتیو افزایش می یابد در نهایت گلوکاتایون پیش ماده ی فیتوکلاتین ها می شود در پاسخ به فلزات فعالیت فیتوکلاتین ها افزایش می یابد و باعث افزایش جریان در استخر گلوکاتایون و سیستمین می گردد.

گلوکاتایون در یک مسیر دو مرحله ای که به ATP نیاز دارد سنتز می شود. و توسط گلوتامیل سیستمین سنتاز و کلوتاتایون سنتاز کاتالیز می گردد. مطالعات ترانسژنیک به طور شفاف نشان دادند که مرحله اول بیشترین تاثیر را روی محدود سازی جریان

در این مسیر دارد. بیان ژن های دخیل در هر دو مرحله توسط تنش و تقاضای گلوکوتایون تحت تاثیر قرار میگیرد اگرچه مکانیزم ها هنوز واضح نیستند. شواهدی برای کنترل پسا ترجمه ای گلوکوتامیول سیستمین سنتاز وجود دارد که بعنوان بخشی از پاسخ تنشی اتفاق می افتد و به سرعت تولید گلوکوتایون را افزایش می دهد.



شکل ۵-۱۳

۱۳-۵-۱ بیوسنتز متیونین

متیونین به خانواده اسپارتات در آمینو اسیدها تعلق دارد که شامل لیزین، ترئونین و ایزولوسین می شوند. زیست شناسی مولکولی این مسیر اخیرا مورد توجه قرار گرفته است.

پیش ماده ی متیونین (oph) Ophosphohomoserin است که در یک شاخه در مسیر بین بیوسنتز ترئونین و متیونین قرار دارد. برای بیوسنتز متیونین OPH با سیستمین ترکیب می شود تا سیستماتینونین توسط سیتانوئین سنتاز کاتالیز شود. سیتانوئین سپس توسط سیتانوئین لیا قبل از سنتز نهایی متیونین توسط متیونین سنتاز کاتالیز می شود.

همان طور که متیونین جزئی از پروتئین هاست پیش ماده ی SAM است که دهنده گروه متیلی برای واکنش متیلی شدن است متیونین پیش ماده ی اتیلن و پلی آمین هاست.

متیونین مصرف نمی شود بلکه بازیافت می گردد استخر SAM ممکن است توسط میزان سنتز آن کنترل شود زیرا محصول پلی فسفات (پیروفسفات) حاصل از واکنش یک بازدارنده آنزیمی است.

نکته مهم این است که SAM فعال ساز سنتز ترئونین است و القای ۸ برابر میزان کاتالیز و کاهش ۲۵ برابری در Km OPH را انجام می دهد.

تنظیم بیان ژن های متیونین و ترئونین با سرکوب بیان سیتاتینونین سنتاز و با القای بیان ترئونین سنتاز از نقش های SAM است که باعث سنتز ترئونین بعنوان شاخه جایگزین برای مصرف OPH است. اثر خالص این تنظیم آلواستریک سنتز ترئونین تنظیم آنتی گونیست رونویسی دو شاخه برای سنتز ترئونین (ترجیح سنتز ترئونین بر سنتز متیونین و SAM) در مسیر است.

وقتی که گوگرد کافی باشد متیونین مازاد تولید می شود هر دو شاخه مسیر توسط دسترسی به هموسرین محدود می شوند.

ترجمه: نرگس اسدیان/ کارشناس تولید محتوا