

تنظیم سنتز آمینو اسید های ضروری و انباشت در گیاهان

چکیده

اگرچه اسید های آمینه برای همه اشکال حیات اهمیت دارند، تنها اسید های آمینه پروتوژنیک که انسان و حیوان قادر به سنتز آمینو اسید های جدید نمی باشند و بایستی از طریق رژیم غذایی خود این موارد را کسب کنند، ضروری می باشند. نه اسید آمینه، لیزین، متیونین، ترئونین، فنیل آلانین، تریپتوفان، والین، ایزولوسین، لوسین و هیستیدین، متناسب با این تعریف است. علیرغم اهمیت غذایی آن، چندین اسید آمینه در مقادیر محدود در بسیاری از گیاهان زراعی دنیا وجود دارند. در طی سال های اخیر، ترکیبی از رویکردهای بیوشیمیایی و ژنتیک معکوس برای تعریف ژن های کد کننده انزیم های مسئول سنتز، تجزیه و تنظیم این آمینو اسید ها استفاده شده اند. در این مقاله مروری، ما به توصیف پیشرفت های اخیر در زمینه درک متابولیسم اسید های آمینه ضروری پرداخته و در مورد رویکرد هایی برای بهبود سطوح آن ها در گیاهان بحث کرده و تلاش هایی را برای تقویت زیستی در گیاهان زراعی ارزیابی می کنیم.

کلمات کلیدی: متابولیسم، تغذیه، انرژی سلولی

مقدمه

جانوران از جمله انسان و دام های تک معده ای که به عنوان غذای انسان محسوب می شوند، قادر به سنتز همه 20 آمینو اسید مورد نیاز برای تشکیل پروتئین نمی باشند. از این روی، آن ها بایستی آمینو اسید هایی که قادر به سنتز آن ها از منابع خارجی نمی باشند بدست بیاورند. این آمینو اسید های ضروری شامل لیزین (Lys مشاهده)، متیونین (MET) و ترئونین (THR) از آسپاراتات (ASP)؛ فنیل آلانین (فنیل آلانین) و تریپتوفان (TRP) اسیدهای آمینه معطر؛ والین (Val)، ایزولوسین ()، و لوسین (LEU) از اسیدهای آمینه با زنجیره شاخه (BCAA) ها؛ و هیستیدین هستند. سطوح چهار مورد از این آمینو اسید ها یعنی Trp, Lys, Met, Thr موجب محدود شدن کیفیت غذایی گیاهان می شود زیرا مقدار آن ها در گیاهان در مقایسه با سطوح مورد نیاز برای رشد بهینه انسان و حیوان بسیار پایین است.

عوامل اصلی موثر بر این امینو اسید ها در گیاهان زراعی شامل موارد زیر است: 1- عوامل تنظیم کننده سنتز اسید های امینه ضروری با حلقه های بازدارندگی بازخورد که در آن انباشت اسید های امینه مانع از فعالیت آنزیم ها در مسیر های بیوسنتزی شده و 2- کاتابولیسم کارآمد این اسید های امینه. در واقع اسید های امینه، پیش ساز های طیف وسیعی از محصولات طبیعی می باشند که نقش مهمی در رشد و نمو گیاه از جمله پاسخ به تنش های زنده و غیر زنده ایفا می کنند امینه اسید ها، به چرخه اسید تری کریوکسیلیک برای تولید انرژی سلولی مورد نیاز برای رشد گیاه به خصوص در پاسخ به تنش های ایجاد محرومیت انرژی کاتابولیزه می شوند (105، 120).

متابولیسم اسید های امینو اسید اروماتیک

در میان اسید امینه های اروماتیک، Phe و Trp، ضروری می باشند، و این در حالی است که تیروزین به عنوان غیر ضروری محسوب می شود (58). سنتز این سه اسید امینه با حفظ فسفونیل پیرووات و اریتروز-4 فسفات به کروزیمات از طریق مسیر شیکیمت شروع می شود. این کوریزمت به phe و TRP از طریق مسیر های بیو سنتزی اسید امینه اروماتیک تبدیل می شود (180-018، 65، 199). با توجه به این که شیکیمیت و مسیر های بیو سنتز اسید امینه به طور مفصل در مطالعات اخیر توصیف شده است (125، 188، 189). و ما یک مروری بر این مسیر ها ارائه می کنیم.

بیوسنتز اسید امینه اروماتیک Phe از کریزمت، از دو مسیر متابولیک استفاده می کند: از طریق فنیل پیرووات به عنوان واسطه متابولیک و از طریق اروگنات استفاده می کند. کوریزمت موتاز، اولین مرحله را در بیوسنتز phe نشان می دهد. بیشتر گونه های گیاهی دارای یک ایزوفرم سیتوسولیک و پلاستیدیال آنزیم می باشند و از این روی با phe و Tyr بازدارندگی شده و توسط trp فعال سازی می شود. پریفنات امینو ترانسفرانز که در سطح مولکولی شناسایی می شود، انتقال معکوس را بین پرفنات و اروژنات کاتالیز می کند. این مسیر برای phe با دی هیدراتاز اروژنات کامل می شود. مطالعه گل های گیاه گل اطلسی نشان داده است که بیان ایزوزایم اروژنات دیه هیدروتاز 1 در گلبرگ ها بالا بوده و این سطح بالا همبستگی مثبتی با بیوسنتز phe اندوژنوز در گل ها می باشد.

لازم به ذکر است که دی هیدراتاز اروژنات ایزوله شده از گونه های مختلف دارای فعالیت های پریفنات دی هیدراتاز می باشد (126، 201). با هدف تحریک تولید phe در گیاهان، آزمایشگاه گالیه، ساختار نو ترکیب را بیان کرد که آنزیم pheA دو عاملی باکتریایی را بیان کرده و در بر گیرنده کوریسما موتاز و پریفنات دی هیدراتاز در

ارابیدوپسیز می باشد (191). گیاهان بیان کننده PheA ، مقدار Phe بالایی را نشان داد و این نشان می دهد که گیاهانی نظیر باکتری ها قادر به تبدیل پری فمات به phe می باشند و این موجب ایجاد سطوح بالایی از پیچیدگی در سنتز زیستی امینه اسید های اروماتیک در گیاهان می شود. اخیرا این انزیم به عنوان امینو اسید اروماتیک ترانسفراز در نظر گرفته شده است (190). با این حال، این در سطح مولکولی در زمانی تعیین شد که مایدا و همکاران (203) نشان داده اند که این تبدیل با امینوترانسفراز tyr- فنیل پیرووات تعیین شد. این انزیم تولید phe را به کاتابولیسم هماهنگ tyr علاوه بر ارتباط مسیر بیوسنتزی پلاستیدیال برای مسیر های متابولیکی پایین دست امینو اسید های اروماتیک تبدیل می کند. فنیل پیرووات یک پیش ساز مهم برای متابولیک های مختلف از جمله فنیل استالدهید، 2- فنیل اتانول، 2- فنیل اتیلن بتا- دی گلوکو پیرونوزید می باشد (99، 186، 197). به علاوه، phe پیش سازی برای طیف وسیعی از متابولیت های واسطه و ثانویه با اهمیت زیاد برای ساختار و دفاع گیاه می باشد (44).

سنتز Trp از کاربمات نیازمند انزیم های زیر می باشد الف: انترانیلات سینتاز، ب: فسفو ربیوزیل انترانیلات ترانسفراز پ: فسفو ربیوزیل انترالین ایزومراز ت: ایندول-3- گلیسرول فسفات سینتاز، ، پ: الفاو بتا سینتاز Trp. در گیاهان سینتاز انترالینات، یک هتروترامر متشکل از دو الفا و دو بتا بوده و باز خورد از طریق اتصال trp به زیر واحد بتا بازدارنده می شود. چون انترالینات فلورز تحت اشعه نور قرار می گیرد، می تواند به عنوان یک نشانگر فنوتیپی برای شناسایی موتانت ها استفاده شود. این موتانت ها به عنوان غیر حساس به باز خورد بوده است. دومین انزیم در بیوسنتز Trp ، انترانیلات و فسفو ربیوزیل پیروفسفونات را به فسفو ربیوزیل انترالین و پیرو فسفونات غیر الی تبدیل کرده و بیان ژن کد کننده این انزیم از طریق عناصر تنظیم کننده درون دو اینترون اول کنترل می شود. سومین انزیم عامل تبدیل فسفوربیوزیل انترالینات به 1- کربوکسی فنیل امین-1- دزوکسی ربیولوز 5- فسفات می باشد. ارابیدوپسیز دارای سه ژن می باشد که در پاسخ به اشعه فرابنفش و نیترا نقره در بافت و سلول تنظیم می شود. انزیم بعدی، ایندول-3- گلیسرول فسفات سینتاز بوده و تشکیل فسفات گلیسرول ایندول-3 از 1- کربوکسی فنیل امین کاتالیز می کند. مرحله نهایی در بیوسنتز Trp در دو بخش با زیر واحد الفا و بتا انجام می شود. اولاً، فسفات ایندول-3- گلیسرول به ایندول و گلیسرول 3- فسفات با زیر واحد الفا تقسیم شده و سپس ایندول به زیر واحد بتا کاتالیز می شود و سپس تصعید آن را با سرین برای تشکیل trp کاتالیز می کند (137).

مطالعات اخیر نشان داده است که سطوح Phe و Trp، در طی این شرایط محیطی متنوع نظیر نور، آب و تنش سرما و در طی پیری ناشی از تاریکی، تنظیم افزایشی می شود. به علاوه، بدیهی است که گیاهان قادر به تبدیل Phe و trp به 2-اکسولوترات در مسیری می شود که شامل کوانزیم ایزو واریل دی هیدروژناز می باشد. الگوی انباشت سطوح Phe و trp در طیف وسیعی از شرایط تنش نشان دهنده پتانسیل نقش گیاهان در تولید اسید های آمینه می باشد. با این حال، تشریح اهمیت گارکردی اسید های آمینه تحت این شرایط امری سخت است.

به دلیل ماهیت ضروری اسید های آمینه اروماتیک، افزایش سطوح در گیاهان با تبدیل ارابیدوپسیز با ژن AroG باکتری نوترکیب رمز کننده 3- دزوکسی ارابینو هپتوکلزومات 7- فسفات انجام شده است. بیان این ژن اثر زیادی بر روی سطوح متابولیت های اولیه نظیر شیکیمیت، Phe و trp و طیف وسیعی از متابولیت های ثانویه از این اسید های آمینه از جمله فنیل پروپونوید، گلوکوزینولات و کانژوگه های هورمونی استفاده می کنند. بیان این ژن در گوجه و و نیز در گل اطلسی منجر به افزایش سطوح اسید های آمینه اروماتیک و نیز سطوح بالای فنیل پروپونوید های فرار و غیر فرار شده است. از این روی سطوح phe همبستگی زیادی با این فنیل پروپونوید ها در جمعیت گوجه فرنگی نداشت. این مطالعات نشان می دهد که اصلاح متابولیسم اسید آمینه اروماتیک یک راهبرد مهندسی موثر در زمانی است که مکانیسم تنظیم بازخورد متوقف می شوند.

متابولیسم هیستیدین

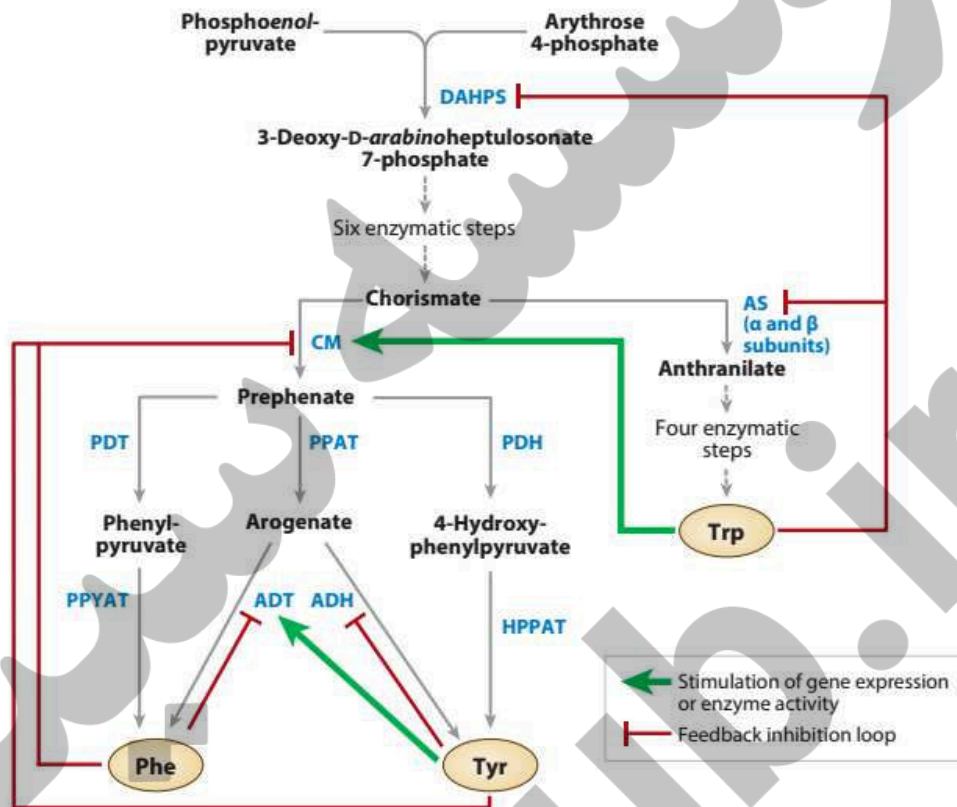
ژنتیک بیوسنز هیستیدین به عنوان پارادایمی برای تنظیم متابولیک در قارچ ها و باکتری ها در نظر گرفته شده است. این در کشف ساختار باز و تنظیم بیوسنتز اسید آمینه اهمیت زیادی داشته است (3-166). اگرچه مطالعه آن در گیاهان کم تر بوده است (159). در واقع اطلاعات کمی در خصوص بیوسنتز هیستیدین در گیاهان وجود دارد. یعنی چندین آنزیم با این مسیر از طریق توسعه علف کش های انتخابی که بلوک کننده مسیر هستند شناسایی شده است. مطابق با نقش بیوسنتز هیستیدین، موتانت های ارابیدوپسیز فاقد مراحل آنزیمی مسیر ها در بررسی ژن های جنینی بوده است.

همه نه آنزیم بیوسنتز هیستیدین در ارابیدوپسیز شناسایی شده اند، باین حال در سال 2010، بود که ژن کد

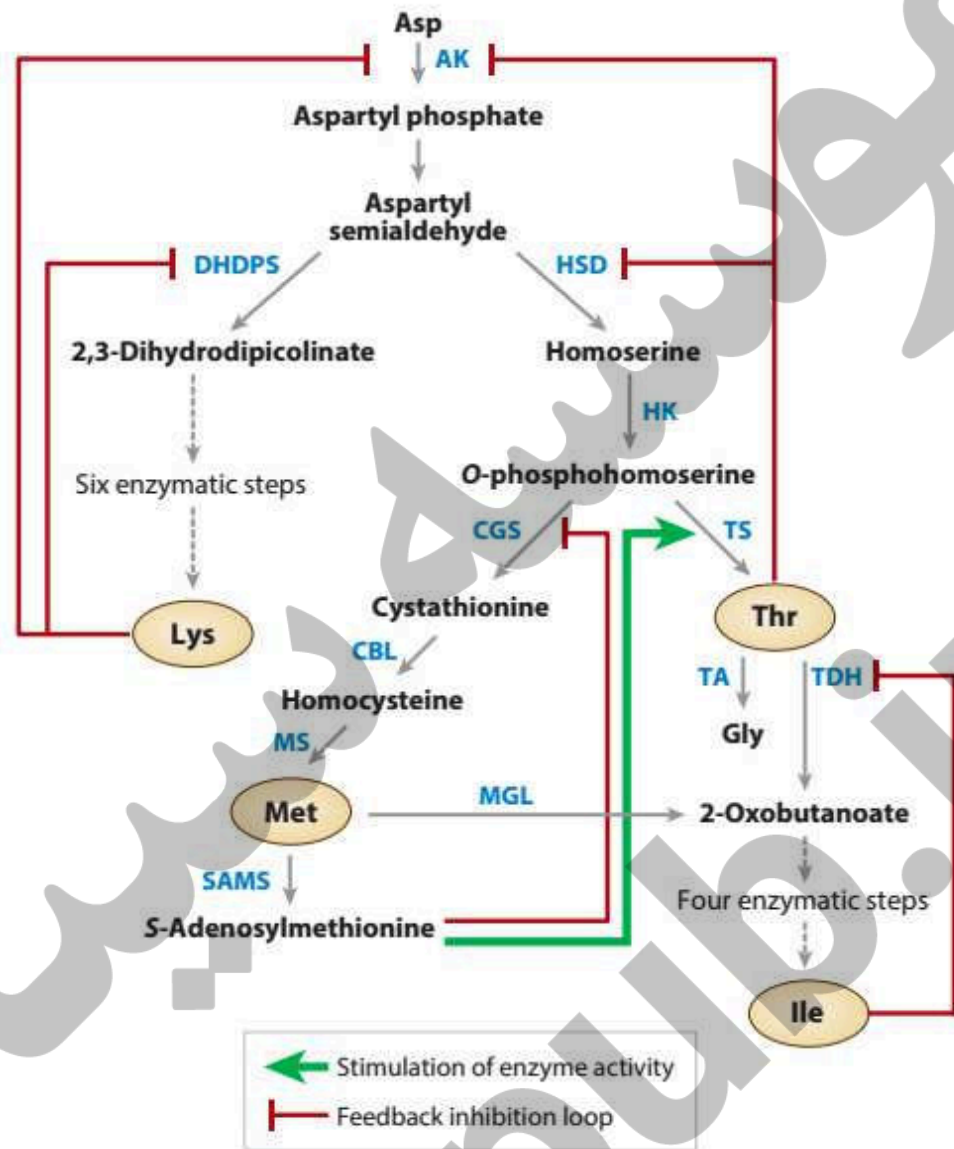
کننده آنزیم قارچی مسیر myoinositol monophosphatase-

like 2 قادر به رمز گذاری فسفاتاز هیستیدینول فسفات عاملی بود. قبل از این، مطالعه جامعه بر روی اثرات بیان

بالای نه انزیم نشان داد که اکثریت کنترل مقدار هیستیدین در گیاهان در واکنش کاتالیز شده با بیان بالای انزیم وجود دارند. از این روی، همان طور که در سایر مسیر های بیوسنتز اسید آمینه مشاهده شده است هر دو ایزوفرم فسفو ریبوز ترانسیفل فرااز از طریق محصول خود تنظیم می شوند(150).



شکل 1: بیوسنتز اسید آمینه اروماتیک منجر به Trp-tyr و phe در گیاهان: انزیم ها به رنگ ابی هستند. ADH، اروژنات دهیدروژناز؛ ADT، دهیدراتاز اروژنات؛ AS، سنتاز انترالینات؛ CM، موتاز کوریزمات؛ DAHPS، 3 دی اکسی-D-ارابینو پیرووات 7-فسفات سنتاز؛ HPPAT، آمینوترانسفراز 4- پیرووات؛ PDH، پری فئات دهیدروژناز؛ PDT، دهیدراتاز پری فئات؛ PPAT، آمینوترانسفراز پری فئات؛ PPYAT، آمینوترانسفراز فنیل پیرووات. ویژگی مهم دیگر مربوط به سایر مسیر های بیوسنتزی گیاهان، نبود دانش ما در خصوص تنظیم رونویسی بیوسنتز هیستیدین است. در واقع دانش فعلی محدود به این است که ژن های ارایدوپسیز به طور ساختاری بیان می شوند. از این روی مشخص نیست که آیا بیان ژن های بیوسنتزی هیستیدین با ژن های بیوسنتزی اسید آمینه در گیاهان هماهنگ سازی می شوند. به این ترتیب گزارش شده است که سطوح هیستیدین با هشت اسید آمینه دیگر در ساقه سیب زمینی ارتباط دارند، این همبستگی در گندم یا ارایدوپسیز نیز گزارش شده است.

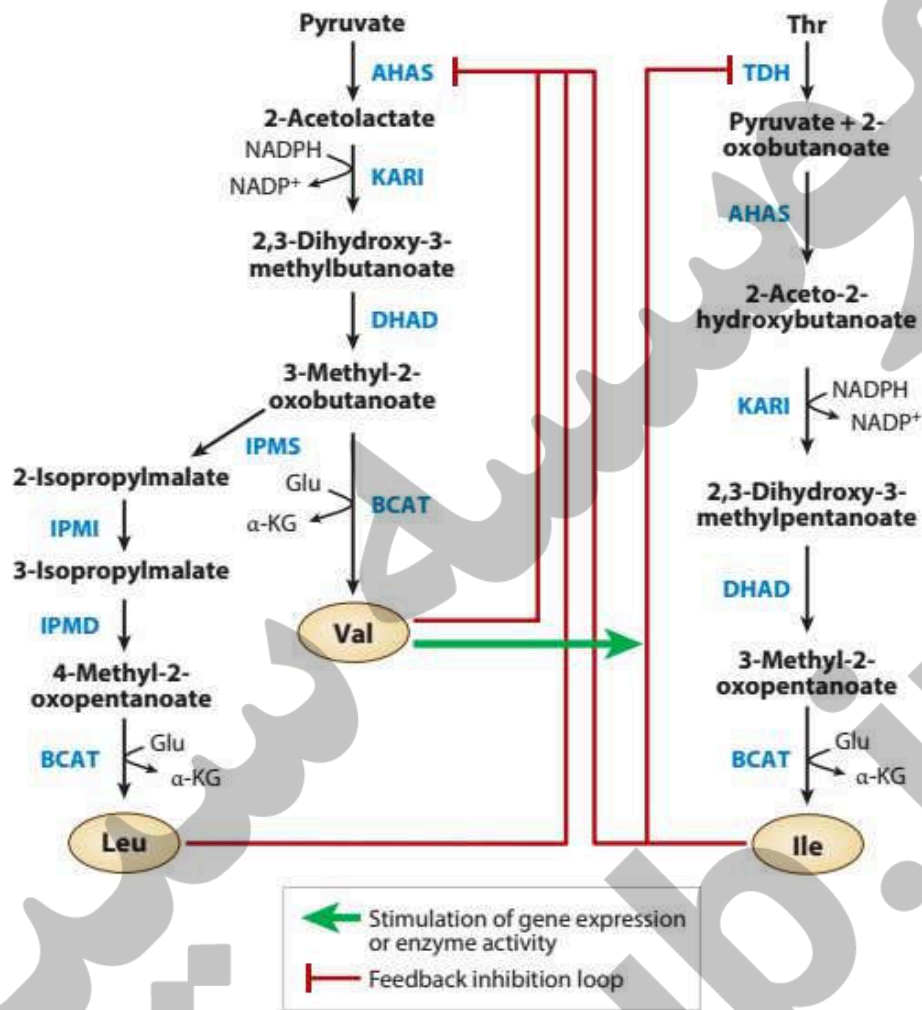


شکل 2: خانواده Asp امینو اسید ها و مسیر های بیوسنتزی منجر به Lys, Thr, Met, Ile در گیاهان. انزیم ها در متن به رنگ ابی نشان داده شده اند. اختصارات: AK، ASP کیناز؛ CBL، سیستاتیونین β -لیاز؛ CGS، سیستاتیونین γ -سنتاز؛ DHDPS، سنتاز؛ HK، کیناز هوموسرین؛ HSD، هوموسرین دهیدروژناز؛ MGL، از Met γ -سنتاز؛ MS، از Met سنتاز؛ SAMS، سنتاز S-آدنوزیل متیونین؛ TA، ترئونین آلدولاز؛ TS، ترئونین سنتاز؛ TDH، دهیدراتاز ترئونین. شکل 2: خانواده Asp امینو اسید ها و مسیر های بیوسنتزی منجر به Lys, Thr, Met, Ile در گیاهان. انزیم ها در متن به رنگ ابی نشان داده شده اند. اختصارات: AK، ASP کیناز؛ CBL، سیستاتیونین β -لیاز؛ CGS، سیستاتیونین γ -سنتاز؛ DHDPS، سنتاز؛ HK، کیناز هوموسرین؛ HSD، هوموسرین

دهیدروژناز؛ MGL، از γ -Met-سنتاز؛ MS، از Met سنتاز؛ SAMS، سنتاز S- آدنوزیل متیونین؛ TA، ترئونین آلدولاز؛ TS، ترئونین سنتاز؛ TDH، دهیدراتاز ترئونین

پس از توصیف کنترل بیوسنتز هیستیدین، گروه های جانبی هیستیدین دارای pk تقریباً 6 می باشد که امکان تمایز بین فرم های پروتونه و غیر پروتونه را تحت شرایط فیزیوژیکی داده است. این به هیستیدین امکان می دهد تا در کاتالیز اسید و باز شرکت کند و به علاوه، این در هماهنگ سازی یون های فلزی در متالو پروتین ها نظیر انگشت روی نقش دارند. این ویژگی ها می توانند فنوتیپ های موتانت های ارابیدپسیز بیوسنتز هیستیدین را توضیح دهند. هیستیدین آزاد نقش مهمی در مقاومت به نیکل در گونه های گیاهی بیش اندوز ایفا کرده و به عنوان لیگاند پیوند نیکل عمل می کنند. بیوسنتز هیستیدین ارتباط نزدیکی با بیوسنتز نوکلوتید دارد و به عنوان پیش ساز با مسیر های جدید پورین، پیریمیدین و نیز کوفاکتور های پیریمیدین NAD و NADP عمل می کند. از این روی می تواند به عنوان یک پیش ساز برای TRP عمل کرده و پیریمیدین امینو اسیدی است که هیستیدین به آن متصل می شود و لازم به ذکر است که اسید گلوتامیک و گلوتامین هر دو به عنوان دهنده نیتروژن در بیوسنتز هیستیدین عمل می کنند.

در فراتر از اسید امینه های اروماتیک، هیستیدین، پر هزینه ترین امینو اسید می باشد که هزینه آن بین 31 و 41 ATP می باشد و قادر به توضیح فراوانی نسبتاً پایین در خارج از مناطق فعال پروتین است. بر عکس سایر اسید های امینه، اطلاعات زیادی در خصوص کاتابولیسم هیستیدین وجود ندارد. چون تنظیم رونویسی اسید امینه در پاسخ به تنش محیطی صورت می گیرد، تشریح مسیر های کاتابولیک هیستیدین یک اولویت تحقیقاتی مهم برای درک کامل تنظیم شبکه متابولیسم اسید امینه است



شکل 3: بیوسنتز اسید آمینه منجر به لو، وال و Ile، α-KG، α-گتالارات؛ AHAS، سنتاز استوهیدرات (همچنین به عنوان استواسات سنتاز شناخته می شود). BCAT، زنجیره شاخه آمینوترانسفراز؛ کوآ، کوآنزیم A؛ DHAD، دهیدراتاز دی هیدروکسید؛ IPMD، ایزوپرلی روات دهیدروژناز؛ IPMI، ایزومراز ایزو پلی متالات؛ IPMS، سنتاز ایزوپروپیل؛ KARI، ketol رداکتوزید اسید؛ TDH، دامیناز ترئونین

متابولیسم لیزین

بیوسنتز لیزین در گیاهان شناسایی شده است (16). دانش ما از سنتز لیزین به 1950 بر می گردد وقتی که انزیم های بیوسنتزی بر اساس دانش باکتری ها مطالعه شده است. در 1984، اول موتانت انباشت کننده لیزین به عنوان یک فرم غیر حساس از سیناز دی هیدرودیپیکنولات مطالعه شده است و 1990 تولید گیاهان تراریخته را مشاهده

کرده اند که در آن فرم باکتریایی غیر حساس به بازخورد این انزیم، در حالت های حساس بیان بالا شده است. روی هم رفته، با توجه به تحقیقات انجام شده در خصوص بیان ژن های کد کننده بیوسنتز لیزین، این مطالعات منجر به دانش اندکی در این خصوص شده اند. نخستین انزیم مسیر یعنی اسپ کیناز متشکل از ایزوفرم هایی است که توسط لیز یا THR بازدارنده و مهار می شوند و در عین حال DHDPS را باز دارنده کرده اند. سایر انزیم های شرکت کننده در بیوسنتز LYS، ردوکتاز دیهیدروپینولیمات، تترا هیدرودیپلیمات، دی اسیلاز و غیره می باشند که تبدیل 2-3- دی هیدرو دیپلیکنات را کاتالیز کند با این حال، این شش انزیم نقش مهمی در بیوسنتز لیز ایفا می کنند. مطالعات در سطح بیان ژن نشان داده است که بیان ژن های AK و DHDPS تنظیم می شود و این که بیان AK با متابولیت ها، ساکاروز و فسفات غیر الی تنظیم می شود. بیوسنتز لیزین در گیاهان شناسایی شده است (16). دانش ما از سنتز لیزین به 1950 بر می گردد وقتی که انزیم های بیوسنتزی بر اساس دانش باکتری ها مطالعه شده است. در 1984، اول موتانت انباشت کننده لیزین به عنوان یک فرم غیر حساس از سیناز دی هیدرودیپلیکنولات مطالعه شده است و 1990 تولید گیاهان تراریخته را مشاهده کرده اند که در آن فرم باکتریایی غیر حساس به بازخورد این انزیم، در حالت های حساس بیان بالا شده است. روی هم رفته، با توجه به تحقیقات انجام شده در خصوص بیان ژن های کد کننده بیوسنتز لیزین، این مطالعات منجر به دانش اندکی در این خصوص شده اند. نخستین انزیم مسیر یعنی اسپ کیناز متشکل از ایزوفرم هایی است که توسط لیز یا THR بازدارنده و مهار می شوند و در عین حال DHDPS را باز دارنده کرده اند. سایر انزیم های شرکت کننده در بیوسنتز LYS، ردوکتاز دیهیدروپینولیمات، تترا هیدرودیپلیمات، دی اسیلاز و غیره می باشند که تبدیل 2-3- دی هیدرو دیپلیکنات را کاتالیز کند با این حال، این شش انزیم نقش مهمی در بیوسنتز لیز ایفا می کنند. مطالعات در سطح بیان ژن نشان داده است که بیان ژن های AK و DHDPS تنظیم می شود و این که بیان AK با متابولیت ها، ساکاروز و فسفات غیر الی تنظیم می شود.

فرایند تجزیه لیزین به طور کامل درک نشده است. با این حال طیف وسیعی از مطالعات مهم در هر دو گیاهان و پستانداران، این مسیر مهم را نشان داده است. در گیاهان، حضور مسیر کاتابولیسم لیز با استفاده از لیزین کربن 14 تایید شد.

متابولیسم آمینو اسید های زنجیره انشعابی

مطالعات مسیر بیوسنتز BCAA نشان داد که چهار انزیم در بیوسنتز Val و Ile نقش دارند: سنز استو هیدروکسی اسید، کتول اسید ردو کتیزومراز، دی هیدروکسی اسید دی هردوکتاز و امینو ترانسفراز زنجیره ای. از این روی بیوسنتز Ile از طریق واکنش دی آمیناز آغاز می شود. اگرچه مسیر مربوط به وال از پیرووات شروع می شود، بیوسنتز لیو با تبدیل 3- متیل-2- اگسوبرترانات به 2- ایزوپلی ملات ایجاد می شود. ترکیب بیو انفورماتیک، داده های پروتومیک و بیولوژی سلولی نشان داده است که این واکنش های بیوسنتزی محدود به پلاستید می باشند. اولین انزیم دی آمیناز، thr را به امونیوم تبدیل می کند.

پس از واکنش اکسیداسیون دی هیدروژناز ایزواریل و واکنش الکترون متقارن، تجزیه leu از طریق واکنش کربوکسیلاسیون با کربوکسیلاز کوانزیم a متیل کرتونیل کاتالیز شد که اولین انزیم توصیف شده از طریق تجزیه می باشد. ارابیدوپسیز کربوکسیلاز را مهار می کند که نشان داده است بازدارندگی بیان زیر واحد مانع از کاتابولیسم شده و در نتیجه موجب اختلال در کاتابولیسم لئو شده و در نهایت می تواند مانع از جوانه زنی بذر شود. این مرحله با عمل هیدراتاز کوانزیم a همراه است. دو ژن کد کننده این انزیم به مینوکندری وارد می شود. از این روی، این ژن ها با ژن های دیگر کاتابولیسم BCAA بیان بالا می شود. واکنش های کاتالیز شده با هیدراتاز کوانزیم در تشکیل طیف وسیعی از اکونانیزیم ها نقش دارد که به نوبه خود توسط انزیم ها در میتوکندری و یا پراکسی زوم کاتابولیزه می شود. بدیهی است که کاتابولیسم BCA یک مثال خوب از مسیر موزاییک است که در بخش های متابولیکی وجود دارد. به علاوه تحلیل بیانی معمولاً مطابق با سایر مسیر های تو فاژی از تجزیه پروتین می باشد. از این روی مطالعه اخیر نشان داده است که همه اسید آمینه های ضروری اندازه گیری شده به طور معنی داری در موتانت اتوفاژی پس از کاهش کربن کاهش می یابد و از این این روی یک رابطه بین این فرایند را اثبات می کند. علی رغم این یافته ها، Val و leu، همبستگی بالایی با سطوح متابولیت ها نشان داد. بر عکس سطوح ILE همبستگی به PHE نشان داده شده است در این رابطه می توان به پرولین، ریبوز، اوراسیل، فروکتوز و اسید گالاکتونیک نسبت داد. اختلال در کاتابولیسم لئو شده و در نهایت می تواند مانع از جوانه زنی بذر شود. این مرحله با عمل هیدراتاز کوانزیم a همراه است. دو ژن کد کننده این انزیم به مینوکندری وارد می شود. از این روی، این ژن ها با ژن های دیگر کاتابولیسم BCAA بیان بالا می شود. واکنش های کاتالیز شده با هیدراتاز کوانزیم در تشکیل طیف وسیعی از اکونانیزیم ها نقش دارد که به نوبه خود توسط انزیم ها در میتوکندری و یا پراکسی زوم

کاتابولیزه می شود. بدیهی است که متابولیسم BCA یک مثال خوب از مسیر موزاییک است که در بخش های متابولیسی وجود دارد. به علاوه تحلیل بیانی معمولاً مطابق با سایر مسیر های تو فازی از تجزیه پروتین می باشد. از این روی مطالعه اخیر نشان داده است که همه اسید آمینه های ضروری اندازه گیری شده به طور معنی داری در موتانت اتوفازی پس از کاهش کربن کاهش می یابد و از این این روی یک رابطه بین این فرایند را اثبات می کند. علی رغم این یافته ها، Val و leu، همبستگی بالایی با سطوح متابولیت ها نشان داد. بر عکس سطوح ILE همبستگی به PHE نشان داده شده است در این رابطه می توان به پرولین، ریبوز، اوراسیل، فروکتوز و اسید گالاکتونیک نسبت داد.

بررسی طیف سنجی وزنی پاسخ های متابولیسی نشان داده است که سطوح Ile و Thr واکنش مشابهی با تنش دارد: وال و لیو به طور کلی واکنش مشابهی دارند با این حال وال در انباشت در پاسخ به تنش UVB منحصر به فرد است. درک ما در خصوص نقش BCAA تحت این شرایط ضعیف است. با این حال، لازم به ذکر است که مطالعات در گونه های مختلف از جمله گوجه فرنگی، کدوم و جو نشان داده است که BCAA نقش مهمی دارد و از این روی، اگرچه این مطالعات نقش زیادی را از BCAA را نشان می دهد. از این روی بدیهی است که تلاش های زیادی برای درک نقش آن ها فراتر از مسیر های بیوسنتزی لازم است.

تقویت زیستی لیزین، متیونین، ترونین و تریپتوفان

در میان نه امینو اسید بررسی شده در این جا، سطوح چهار Met, Lys, Thr, و Trp موجب محدود شدن کیفیت تغذیه گیاهان شده است زیرا مقدار آن ها در گیاهان در مقایسه با سطوح مورد نیاز برای رشد بهینه انسان و حیوان پایین است. به علاوه حداقل دو امینو اسید دیگر Cys-Tyr می باشد که به صورت امینو اسید های ضروری طبقه بندی شده است و در پستانداران از امینو اسید met و phe سنتز می شود و از این روی سطوح آنها موجب محدود شدن کیفیت تغذیه ای می شود. وقتی یک اسید آمینه در سطوح پایین باشد، سایرین کاتابولیز شده و به عنوان منبع انرژی استفاده می شود و این مانع از سنتز پروتین می شود و این موجب کاهش محتوی پروتین می شود که برای کارکرد بدن نیاز است. در کشت هایی با رژیم غذایی گیاه خواری و در کشور های توسعه یافته، این می تواند منجر به کمبود پروتین غیر ویژه شود که بر اندام های پستانداران اثر دارد و از این روی کارکرد کلیه، مغز، موکوز و تراوایی و سیستم ایمنی مطلوب است. علائم فیزیکی کمبود پروتین شامل پروتین خون پایین، رشد فیزیکی و

ذهنی در کودکان، پوست است. این سندرم اشاره به کاهش انرژی و پرواين دارد و سازمان بهداشت جهانی برآورد کرده است که تقریباً 30 درصد افراد در کشور های در حال توسعه از آن رنج می برند. در بسیاری از کشت ها، غلات با لگومیان برای غلبه بر این محدودیت ترکیب می شوند ولی سطح اسید های آمینه موجب محدود شدن ارزش غذایی گیاهان شده است. از این روی در کشور های غربی، اسید آمینه سنتز شده به غذا های حیوانی برای دست یابی به رژیم غذایی مطلوب در نظر گرفته شده است.

فیلتر موتانت و نژاد کلاسیک قادر به افزایش سطح این اسید های آمینه نبوده است و زمانی که مقدار افزایش یافته است به قیمت کاهش محصول حاصل می شود. تحقیقات مهندسی ژنتیک در این زمینه بسیار مطلوب بوده است با توجه به این که انتخاب ژن هترولوگ از طریق تحقیقات قبلی قابل بررسی بوده است. به علاوه، استفاده از پروموتور های بافت ویژه به غلبه بر فنوتیپ های غیر طبیعی کمک می کند. چهار رویکرد متفاوت در تلاش برای افزایش سطوح این چهار اسید آمینه در بافت های پوششی و بذر های گیاهان تراژنی استفاده شده اند (جدول مکمل 1). اولین رویکرد افزایش سنتز این اسید های آمینه می باشد. سنتز Trp از کاربدهات نیازمند انزیم های زیر می باشد الف: انترانیلات سینتاز، ب: فسفو ریبوزیل انترانیلات ترانسفراز پ: فسفو ریبوزیل انترالین ایزومراز ت: ایندول-3-گلیسرول فسفات سینتاز، ، پ: الفاو بتا سینتاز Trp. در گیاهان سینتاز انترالینات، یک هتروترامر متشکل از دو الفا و دو بتا بوده و بازخورد از طریق اتصال trp به زیر واحد بتا بازدارنده می شود. چون انترالینات فلورز تحت اشعه نور قرار می گیرد، می تواند به عنوان یک نشانگر فنوتیپی برای شناسایی موتانت ها استفاده شود. این موتانت ها به عنوان غیر حساس به بازخورد بوده است. دومین انزیم در بیوسنتز Trp ، انترانیلات و فسفو ریبوزیل پیروفسفونات را به فسفو ریبوزیل انترالین و پیرو فسفونات غیر الی تبدیل کرده و بیان ژن کد کننده این انزیم از طریق عناصر تنظیم کننده درون دو اینترون اول کنترل می شود. سومین انزیم عامل تبدیل فسفوریبوزیل انترالینات به 1- کربوکسی فنیلآمین-1- دزوکسی ریبولوز 5- فسفات می باشد. ارابیدوپسیز دارای سه ژن می باشد که در پاسخ به اشعه فرابنفش و نیترا نقره در بافت و سلول تنظیم می شود. انزیم بعدی، ایندول-3-گلیسرول فسفات سینتاز بوده و تشکیل فسفات گلیسرول ایندول-3 از 1- کربوکسی فنیل آمین کاتالیز می کند. مرحله نهایی در بیوسنتز Trp در دو بخش با زیر واحد الفا و بتا انجام می شود. اولاً، فسفات ایندول-3-گلیسرول به ایندول و

گلیسرول 3-فسفات با زیر واحد الفافا تقسیم شده و سپس ایندول به زیر واحد بتا کاتالیز می شود و سپس تصعید آن را با سرین برای تشکیل trp کاتالیز می کند (137).

مطالعات اخیر نشان داده است که سطوح Phe و Trp، در طی این شرایط محیطی متنوع نظیر نور، آب و تنش سرما و در طی پیری ناشی از تاریکی، تنظیم افزایشی می شود. به علاوه، بدیهی است که گیاهان قادر به تبدیل Phe و trp به 2-اکسولوترات در مسیری می شود که شامل کوانزیم ایزو واریل دی هیدروژناز می باشد. الگوی انباشت سطوح Phe و trp در طیف وسیعی از شرایط تنش نشان دهنده پتانسیل نقش گیاهان در تولید اسید های آمینه می باشد. با این حال، تشریح اهمیت گارکردی اسید های آمینه تحت این شرایط امری سخت است.

به دلیل ماهیت ضروری اسید های آمینه اروماتیک، افزایش سطوح در گیاهان با تبدیل ارابیدپسیز با ژن AroG باکتری نو ترکیب رمز کننده 3- دزوکسی ارابینو هپتوکلزومات 7- فسفات انجام شده است. بیان این ژن اثر زیادی بر روی سطوح متابولیت های اولیه نظیر شیکیمیت، Phe و trp و طیف وسیعی از متابولیت های ثانویه از این اسید های آمینه از جمله فنیل پروپونوید، گلوکوزینولات و کانژوگه های هورمونی استفاده می کنند. بیان این ژن در گوجه و و نیز در گل اطلسی منجر به افزایش سطوح اسید های آمینه اروماتیک و نیز سطوح بالای فنیل پروپونوید های فرار و غیر فرار شده است. از این روی سطوح phe همبستگی زیادی با این فنیل پروپونوید ها در جمعیت گوجه فرنگی نداشت. این مطالعات نشان می دهد که اصلاح متابولیسم اسید آمینه اروماتیک یک راهبرد مهندسی موثر در زمانی است که مکانیسم تنظیم بازخورد متوقف می شوند.

جمع بندی

- 1- ارزیابی جمعیت های اصلاحی و واریانت های طبیعی نشان می دهد که همانند متابولیت ها، معماری ژنتیکی کنترل اسید های آمینه ضروری بسیار پیچیده می باشند
- 2- مسیر های بیوسنتز همه نه اسید آمینه ضروری، توسط محصولات خود در حلقه باز دارندگی تنظیم می شود
- 3- شیوه های تجزیه اسید آمینه به خوبی درک نشده است و در بسیاری از موارد دیگر دانش ما از واکنش های کاتابولیسم متابولیت ها ناقص است
- 4- تنظیم رونویسی بیوسنتز اسید آمینه تحت طیف وسیعی از تنش ها بررسی شده است که نشان می دهد فراوانی اسید آمینه نه تنها با تجزیه پروتین با سنتز جدید تحت این شرایط تنظیم افزایشی می شود.

- 5- شواهد زیادی وجود دارد که نشان می دهد اسید آمینه های ضروری به عنوان سوبستراهای تنفسی جایگزین عمل می کنند و از این روی سوبستراهایی برای تولید متابولیک محسوب می شوند
- 6- راهبرد های ژنتیک معکوس موفقیت زیادی در افزایش مقدار Lys, Met, Thr, Trp در گیاهان دارند.