ธาตุเหล็ก ซิเดอร์โรฟอร์ และ จุลินทรีย์

หนึ่ง เตียอำรุง[1*] และ นันทกร บุญเกิด[2]

Teaumroong, N. and Boonkerd, N. (1996). ***Iron Element, Siderophores and Microbes.*** Suranaree J. Sci. Technol 3: 95-100.

เหล็ก จัดเป็นธาตุอาหารที่มีปริมาณมากเป็นอันดับ 4 บนพื้นผิวโลก ในมหาสมุทรมีปริมาณของธาตุเหล็กคิดเป็น 0.5-5.0 ส่วนต่อพันล้านส่วน ในส่วนที่เป็นหินและดินนั้น ธาตุเหล็กที่พบคิดเป็นปริมาณถึงร้อยละ 5 แต่โดยทั่วไป ธาตุเหล็กอยู่ในรูปของสารประกอบที่ละลายน้ำได้ยาก หรือไม่สามารถละลายน้ำได้เลย เช่นในสภาพที่มีก๊าซออกซิเจน ค่า pH เป็น 7.0 ธาตุเหล็กมักปรากฏในรูปของ Fe^{3+} และในสถานะของแข็งที่เป็น oxide-hydroxide polymer ซึ่งมีความสามารถในการละลายเพียง 10^{-38} M (ในรูปของ $FeOH_3$) จากสมบัติของการละลายของธาตุเหล็กนี้เองที่เป็นอุปสรรคต่อการที่สิ่งมีชีวิตจะนำธาตุเหล็กมาใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อการดำรงชีวิต

ความสำคัญของธาตุเหล็กต่อสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่คือเป็นองค์ประกอบสำคัญในโมเลกุลของสารกลุ่มที่เป็น cytochromes โดยมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ เพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงาน และยังรวมไปถึงเป็นองค์ประกอบสำคัญของเอนไซม์ nitrogenase ซึ่งมีบทบาทต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจนของสิ่งมีชีวิตบางชนิดอีกด้วย กลไกทั่วไปที่สิ่งมีชีวิตจะนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์มีสองรูปแบบคือ สารประกอบที่มีธาตุเหล็ก จะจับกันบริเวณผนังเซลล์ในส่วนที่สามารถเชื่อมจับกับกลุ่มในโลหะต่างๆ ประกอบกับกรดอินทรีย์ที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยกธาตุเหล็กออกจากโมเลกุลของสารประกอบนั้นๆ แล้วจึงถูกขนย้ายเข้าสู่เซลล์ต่อไป บางครั้งการนำเข้าธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ในลักษณะนี้เรียกว่า Low affinity อีกรูปแบบหนึ่งของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์อาจเรียกว่า High affinity กล่าวคือ สิ่งมีชีวิตหรือโดยเฉพาะจุลินทรีย์จะสร้างสารที่สามารถเข้าเกาะจับโมเลกุลที่มีธาตุเหล็กได้โดยตรง โดยสารดังกล่าวนี้จะเป็นสารในกลุ่ม ligands ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อไอออนโมเลกุลของธาตุเหล็ก หรือที่รู้จักกันในนามของซิเดอร์โรฟอร์ (Siderophores; เป็นภาษากรีก หมายถึง iron carrier)

ซิเดอร์โรฟอร์ เป็นสารกลุ่ม ligands ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (0.5-1.5 กิโลดาลตัน) มีความจำเพาะเจาะจงต่อธาตุเหล็กสูง สามารถละลายได้ในน้ำ ขนถ่ายเข้าสู่เซลล์ และเป็นแหล่งเก็บสะสมธาตุเหล็กของสิ่งมีชีวิตได้ อย่างไรก็ตาม นักวิทยาศาสตร์พบว่าในสภาพแวดล้อมที่ขาดธาตุเหล็ก หรือมีธาตุเหล็กในปริมาณน้อย จะกระตุ้นให้จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดมีการสร้างซิเดอร์โรฟอร์มากขึ้น และในทางกลับกัน การสร้างก็จะถูกยับยั้งเมื่อในสภาพแวดล้อมมีปริมาณของธาตุเหล็กมากขึ้น ยกเว้นในกลุ่มของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* ซึ่งสามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีธาตุเหล็กเลย

---

[1] *Dr.rer.nat., อาจารย์, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ*

[2] *Ph.D., หัวหน้าสถานวิจัย สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000.*

** ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ*

ซิเดอร์โรฟอร์ สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม โดยอาศัยตามความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมี คือ

1. กลุ่ม Cathecolamides หรือ Cathecolate siderophores (CS) พบได้จากสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ที่เป็นแบคทีเรีย ไม่พบในสิ่งมีชีวิตที่เป็นเชื้อรา CS ที่พบเป็นครั้งแรก ได้แก่ 2, 3-dihydroxy-N- benzoyl-glycine (DHB-glycine) ซึ่งสกัดได้จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (สูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 1)

2. กลุ่ม Hydroxamates หรือ Hydroxamate siderophores (HS) พบได้จากสิ่งมีชีวิตที่เป็นทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา Ferrioxamine จัดเป็นประเภทหนึ่งของซิเดอร์โรฟอร์กลุ่มนี้ที่สร้างจาก *Actinomycetes* โดยมีโครงสร้างทางเคมีเป็นทั้งแบบ linear และ cyclic ตัวแรกที่ถูกค้นพบคือ Desferrioxamine B ซึ่งปัจจุบันใช้เป็นยารักษาผู้ป่วยที่มีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าปกติ (มีชื่อทางการค้าว่า Desferal สูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 2) อีกประเภทหนึ่งของกลุ่ม HS นี้คือ Ferrichromes (สูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 3) ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกสร้างจากเชื้อรา HS ประเภทนี้ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1952 จากการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Ustilago sphaerognena* และสร้าง HS ที่ชื่อว่า Ferrichrome A

ซิเดอร์โรฟอร์ทั้งสองกลุ่มนี้มีโครงสร้างหลักที่เหมือนกันเป็นส่วนใหญ่คือ ส่วนที่เป็น polyamine ซึ่งในกระบวนการสังเคราะห์ซิเดอร์โรฟอร์ในสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะจุลินทรีย์นั้นจะใช้สารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์หรือที่เรียกว่า precursor นั้น เป็นสารกลุ่มกรดอะมิโน เช่น L-ornithine เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ HS จากเชื้อราไมคอไรซาใน *Hymenoscyphus ericae* หรือ L-serine เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ HS จากเชื้อรา *U. sphaerognena* หรือ CS สร้างจากแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* และ *Escherichia coli* ที่ชื่อว่า Enterobactin ที่ถูกสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน L-serine และ dihydroxybenzoic acid โดยใช้ ATP เป็น cofactor

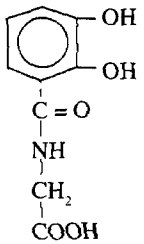
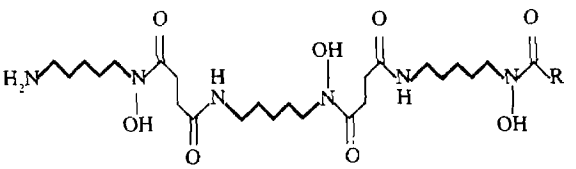


Fig. 1. Structure of 2, 3-dihydroxy-N-benzoyl-glycine.
Source: *Lankferd (1973).*



Desferrioxamine B R=CH_3

Fig. 2. Structure of Desferrioxamine B.
Source: *Winklemann (1991).*

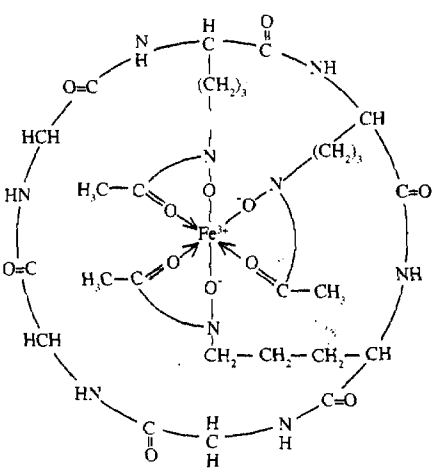


Fig. 3. Structure of Ferrichromes.
Source: *Lankford (1973).*

กลไกทั่วไปของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์โดยโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์นั้น ประกอบไปด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ

1. เริ่มการสังเคราะห์โมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์จากนั้นจึงแพร่ผ่านผนังเซลล์ออกไปสู่สิ่งแวดล้อม

2. ซิเดอร์โรฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็ก แล้วถูกดึงกลับเข้าสู่เซลล์ โดยกระบวนการ active transport

3. ปลดปล่อยโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ที่ดึงธาตุเหล็กออกแล้วคืนสู่ภายนอกเซลล์

เมื่อโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็กแล้วนั้น โมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์จะจับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์ ซึ่งทำหน้าที่เป็น receptor protein จากนั้นจะถูกขนย้ายผ่านเข้ามายังผนังเซลล์ โดยกระบวนการ active transport กล่าวคือ สาร ATP ที่ผนังเซลล์จะเป็นตัวกระตุ้นให้โปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่มี ATP เกาะอยู่แล้ว โดยการส่งผ่านพลังงานทำให้นำธาตุเหล็กเข้าสู่ภายในส่วนของ cytoplasm ได้ ทั้งนี้แต่ละชนิดของซิเดอร์โรฟอร์เองจะมีความจำเพาะเจาะจงต่างกันไปกับโปรตีนต่างๆ ที่ผนังเซลล์ด้วย เมื่อโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ที่จับธาตุเหล็กถูกนำผ่านเข้ามายังผนังเซลล์แล้ว ธาตุเหล็กก็จะปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์โดยอาศัยกลไกสำคัญสามขั้นตอน โดยขั้นตอนแรก เมื่อโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ที่มีธาตุเหล็กจับอยู่ก่อนที่จะเข้ามายัง cytoplasm นั้น บริเวณโมเลกุลที่เป็น ligand ที่เชื่อมกับธาตุเหล็กจะถูกสลาย เช่น เอนไซม์ esterase จะเข้าทำปฏิกิริยากับซิเดอร์โรฟอร์กลุ่ม enterobactin หรือธาตุเหล็กอาจถูกปลดปล่อยโดยปฏิกิริยาเคมีแบบ reduction เมื่อธาตุเหล็กถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์แล้ว ส่วนที่เป็นโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์เอง อาจถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจากเดิมหรือไม่ก็ได้ แล้วจึงถูกปลดปล่อยออกสู่นอกเซลล์ไปสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อจับกับธาตุเหล็กต่อไป

ดังได้กล่าวแล้วข้างต้น เนื่องจากธาตุเหล็กจัดเป็นธาตุสำคัญต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเป็นองค์ประกอบสำคัญในโปรตีนที่เกี่ยวกับกระบวนการขนย้ายอิเลคตรอนในการหายใจระดับเซลล์ เช่น cytochromes เอนไซม์ hydrogenase iron-sulfer protein (ferredoxin) เอนไซม์ succinate dehydrogenase หรือไม่ว่าจะเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของ H_2O_2 และ O_2 เช่น มีความสำคัญต่อเอนไซม์ catalase peroxidase superoxide dismutase และ oxygenase นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อวัฏจักร tricarboxylic acid โดยเฉพาะต่อเอนไซม์ aconitase รวมไปถึงกระบวนการสังเคราะห์ DNA และการตรึงไนโตรเจนอีกด้วย ดังนั้นจุลินทรีย์เกือบทั้งหมดพบว่าสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ ยกเว้นแบคทีเรีย *Arthrobacter flavescens*

บางสายพันธุ์ที่จัดเป็น siderophores auxotroph คือไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ และไม่สามารถเจริญได้ถ้าไม่ได้รับซิเดอร์โรฟอร์จากสิ่งมีชีวิตอื่น โดยเฉพาะซิเดอร์โรฟอร์ในกลุ่ม HS เท่านั้น ดังนั้นปัจจุบันจึงได้มีการนำแบคทีเรียในยีนัสนี้มาใช้ในการตรวจสอบทางชีวภาพอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสร้าง HS จากจุลินทรีย์ต่างๆ ดังจะยกตัวอย่างสรุปประเภทของจุลินทรีย์และชนิดของซิเดอร์โรฟอร์ที่สร้างขึ้น พอสังเขปดังนี้

กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria)

1. Streptomyces

แบคทีเรียกลุ่มนี้จะสร้างซิเดอร์โรฟอร์จำพวกที่เรียกว่า Ferrioxamine ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของ diamines และ carboxylic acid ปัจจุบันพบว่า Ferrioxamine มีด้วยกันทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่ Ferrioxamine A_1, A_2, B, D_1, D_2, E, G, H และ I นอกจาก Ferrioxamine จะพบในแบคทีเรียยีนัส *Streptomyces* แล้วยังพบในยีนัสอื่นๆ อีก เช่น *Arthrobacter, Chromobacterium, Pseudomonads* และ *Erwinia herbicola* เป็นต้น

2. Mycobacteria

แบคทีเรียที่ได้ทำการศึกษาแล้วคือ *Mycobacterium smegmatis, M. tuberculosis, M. paratuberculosis* และ *M. leprae* โดยซิเดอร์โรฟอร์

ที่สร้างจากแบคทีเรียกลุ่มนี้เรียกว่า Mycobactin นอกจากนี้ยังพบว่าบางสายพันธุ์ยังสร้างซิเดอร์โรฟอร์อีกชนิดหนึ่งที่ชื่อ Exochelin ขึ้นเพื่อช่วยในการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ร่วมกับ Mycobactin อีกด้วย

3. Bacillus

แบคทีเรียในกลุ่มที่นิยมศึกษาได้แก่ *Bacillus megaterium* ซึ่งสร้างซิเดอร์โรฟอร์ที่ชื่อ Schizokinen ส่วน *B. subtilis* นั้นสร้างซิเดอร์โรฟอร์ชื่อ DHB-glycine การนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ด้วย Schizokinen พบว่ามีบทบาทร่วมกับซิเดอร์โรฟอร์กลุ่มอื่นด้วย เช่น Ferrioxamine และในขณะเดียวกัน DHB-glycine ก็มีบทบาทร่วมกับสารประกอบที่มีกลุ่มของ phenol ด้วย

4. Staphylococcus

ซิเดอร์โรฟอร์กลุ่มสำคัญที่ได้ศึกษากับแบคทีเรียในยีนัสนี้ได้แก่ staphyloferin A และ B ซึ่งสร้างจาก *Staphylococcus hyicus* DSM 20459 โดยมีองค์ประกอบหลักในโมเลกุลเป็นกรดอะมิโน D-ornithine และ citric acid

กลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria)

1. Enterobacteria

กลุ่มของซิเดอร์โรฟอร์ที่สร้างจากแบคทีเรียกลุ่มนี้รวมเรียกว่า Enterochelin หรือบางครั้งนิยมเรียกว่า Enterobactin ซึ่งสร้างได้จากแบคทีเรียใน *E. coli, Salmonella, Shigella, Klebsiella* และยีนัสอื่นๆ ในกลุ่ม enterobacteria *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่ถูกเลือกเพื่อการศึกษาเกี่ยวกับซิเดอร์โรฟอร์มากที่สุด โดยเฉพาะในเชิงพันธุกรรมระดับโมเลกุล โดยพบว่า ยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์ Enterobactin เรียกว่า ent gene ยีนที่ควบคุมการขนย้าย เรียกว่า fep gene และยีนที่ควบคุมการย่อยสลาย Enterobactin คือ gene ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ esterase หรือเรียกว่า fes gene นอกจากนี้แล้วความรู้ในเรื่องการขนย้ายธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ ซึ่งถูกควบคุมโดยโปรตีนต่างๆ บนผนังเซลล์ยังได้จากการศึกษาจาก *E. coli* เช่นเดียวกัน เช่น การค้นพบ Fep A protein receptor ที่ผนังเซลล์ชั้นนอกสุด ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อโมเลกุลของ Enterobactin ที่จับเอาธาตุเหล็กไว้แล้ว รายละเอียดเกี่ยวกับยีนที่สัมพันธ์กับ Enterobactin ดังสรุปในตารางที่ 1

2. Paracoccus

ส่วนใหญ่ทำการศึกษาในแบคทีเรีย *Paracoccus denitrificans* ซึ่งพบว่าสร้างซิเดอร์โรฟอร์ที่ชื่อ Parabactin โดยจัดว่า Parabactin นี้เป็นซิเดอร์โรฟอร์ตัวหนึ่งที่มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง

3. Rhizobia

เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มนี้ จัดเป็นกลุ่มที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศได้ ดังนั้นธาตุเหล็กจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งโดยเฉพาะต่อเอนไซม์ nitrogenase และ hydroxygenase รวมไปถึงองค์ประกอบของโปรตีนที่เกี่ยวข้องได้แก่ ferredoxin และ cytochromes ในยีนัส *Bradyrhizobium* พบว่าจะสร้าง citric acid ซึ่งทำหน้าที่เสมือนซิเดอร์โรฟอร์โดยทั่วไป และใน *Rhizobium phaseoli* บางสายพันธุ์จะสร้างซิเดอร์โรฟอร์ที่ชื่อว่า Rhizobactin

ทางด้านการตรึงไนโตรเจนโดยไรโซเบียมและพืชตระกูลถั่วนั้น ได้มีการศึกษาโดยนักวิจัยจาก Western Australia, Lomeragan; Murdoc, Dilworth และกรมวิชาการเกษตร โดยนันทกร บุญเกิด และปรีดา พากเพียร ภายใต้โครงการ ACIAR พบว่าในดินด่าง ธาตุเหล็กจะอยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช ถั่วลิสงจะมีอาการขาดธาตุเหล็ก แต่ถ้าถั่วนั้นได้รับไรโซเบียมสายพันธุ์ NC 92 อาการขาดเหล็กจะหายไป ทั้งนี้เพราะว่าไรโซเบียมสายพันธุ์ NC 92 สามารถสร้างผลิตสารซิเดอร์โรฟอร์ จับธาตุเหล็กที่มีปริมาณน้อยในดินเข้าสู่เซลล์ และสังเคราะห์ leghaemoglobin ในปมถั่วเพื่อการตรึงไนโตรเจนได้ ในขณะที่สายพันธุ์ TAL 1000 ไม่สามารถสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ ถั่วจึงไม่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ จึงแสดงให้เห็นว่าไรโซเบียมบางสายพันธุ์ไม่สามารถสังเคราะห์ซิเดอร์-

3. กลุ่มเชื้อรา Ericoid mycorrhiza

ใน *Hymenoscyphus ericae* และ *Oidiodendron griseum* พบว่าสร้าง HS ที่ชื่อ Ferricrocin

ในปัจจุบันลักษณะการวิจัยที่เกี่ยวกับซิเดอร์โรฟอร์นั้นยังคงรูปแบบทั่วไปคือ การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สร้างซิเดอร์โรฟอร์ การจำแนกและวิเคราะห์ชนิดของซิเดอร์โรฟอร์ที่สร้างขึ้น การศึกษากระบวนการขนย้ายธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์โดยเทคนิคทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล และกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ โดยเฉพาะกับโรคที่เกิดจากระดับธาตุเหล็กสูงมากเกินไป และประยุกต์ใช้ในทางการเกษตรเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กแก่พืชเกษตรกรรมและป่าไม้ ผู้เขียนหวังว่าบทความนี้อาจสร้างแรงจูงใจให้กับนักวิจัยในบ้านเราเริ่มตื่นตัวต่อการศึกษาและการประยุกต์ใช้ซิเดอร์โรฟอร์ที่ยังไม่มีการศึกษาอย่างจริงจังนักในเมืองไทย.

บรรณานุกรม

Lankford, C.E.. (1973). Bacterial assimilation of iron. Crit. Rev. Microbiology 2: 273-331.

Federspiel, A., Schuler, R. and Haselwandter, K. (1991). Effect of pH, L-ornithine and L-proline on the hydroxamate siderophore production by *Hymenoscyphus ericae*, a typical ericoid mycorhizal. Plant and Soil. 130: 259-261.

Winklemann, G. (1991). *In* Hand book of iron chelates. CRC Press, Inc.

Haselwandter, K. (1995). Mycorhizal fungi : Siderophore production. Crit. Rev. Biotechnology 15: 287-291.

Neilands, J.B. (1989). Iron absorption and transport in microorganisms. Ann. Rev. Nutr. 1: 27-46.

Crosa, J.H. (1989). Genetics and molecular biology of siderophore mediated iron transport in bacteria. Microbiol. Rev. 53; 517-530.

Winklemann, G., van der Helm, D. and Neilands, J. B. (1987). In. Iron transport in microbes, plants and animals. VCH Verlagsgeselleschaft mbH, D-6940 Wienheim, Germany.