# فصل دوم
# ساختمان و عملکرد سلول پروکاریوتی

## مروی بر ساختار سلول پروکاریوتی

### شکل، آرایش و اندازه

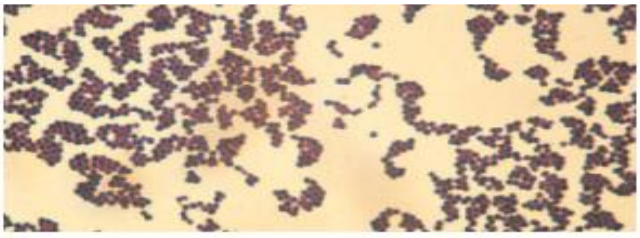
شاید تصور کنید که جانداران نسبتاً ساده و کوچکی مثل پروکاریوت ها از نظر شکل و اندازه یکسان باشند. این تصور درستی نیست، زیرا که دنیای میکروبی از نظر مرفولوژی تنوع تقریباً نامحدودی را از خود نشان می دهد. با وجود این، شایع‌ترین پروکاریوت های شناخت شده دارای یکی از دو شکل هستند. کوکسی ( مفرد آن کوکوس) سلول‌هایی تقریباً کروی شکل هستند؛ این سلول ها به شکل سلول های تکی وجود دارند، ولی به آرایش های ویژه ای نیز در می آیند که اغلب موارد در تشخیص آن ها مفید هستند. دیپلوکوکسی ( مفرد آن، دیپلوکوکوس) هنگامی به وجود می آید که کوکوس ها پس از تقسیم برای تشکیل جفت‌هایی در کنار هم باقی بمانند. زنجیره‌های بلند کوکوس ها نیز هنگامی ایجاد می‌شود که سلول‌ها پس از تقسیم های مکرر در یک سطح به هم چسبیده باقی بمانند؛ این الگوی آرایش در جنس های *Enterococcus; Streptococcus* و*Lactococcus* دیده می شود. *Staphylococcus* برای ایجاد اجتماعات خوشه انگوری در سطوح اتفاقی تقسیم می شود. تقسیم منظم در دو یا سه سطح می‌تواند اجتماعات متفاوتی از کوکوس ها را به وجود آورد. اعضای جنس میکروکوکوس و پدیوکوکوس اغلب برای تشکیل گروه های مربع شکل چهار سلولی به نام تتراد در دو سطح تقسیم می شوند. در جنس *Sarcina*، کوکوس ها برای تولید مجموعه‌های مکعبی حاوی هشت سلول در سه سطح تقسیم می شوند.

شکل رایج دیگر باکترهای شکل میله ای است، که گاهی به باسیلوس ( جمع آن، باسیلی) معروف است. یکی مثال شاخص برای باکتری های میله‌ای شکل ، *Bacillus megaterium* است. باسیل ها از نظر نسبت طول به پهنا بسیار متفاوت هستند؛ کوکوباسیل ها بسیار کوتاه و پهن هستند، به طوری که مثل کوکوس ها به نظر می‌رسند(مثال: بوردتلاپرتوسیس،بروسلاابورتوس). تشکل انتهای باسیل اغلب بین گونه ها متغیر است و می تواند تخت، مدور ، سیگارهای شکل یا دو شاخه باشد. اگر چه بسیاری از باسیل ها به شکل تکی وجود دارند. گاهی پس از تقسیم برای تشکیل جفت ها یا زنجیره‌های باسیلی در کنار هم باقی می‌مانند ( مثل *Bacillus megaterium* به شکل زنجیره‌های بلند دیده می شود ). اگر چه پروکاریوت ها اغلب به شکل میله‌ای یا کروی ساده هستند، شکل‌ها و آرایش های غیر شایعی نیز وجود دارند. ویبریوها که بسیار شبیه به باسیل ها هستند، شکل ویرگولی دارند. پروکاربوت های فنری شکل را می‌توان به عنوان اسپیریل ها یا اسپیروکت ها طبقه بندی کرد. اسپیریل ها در یک یا هر دو انتهای خود دارای دسته هآی تاژه هستند. اسپیروکت ها بسیار قابل انعطاف هستند و دارای یک تاژهٔ داخلی ویژه هستند. اکتینومیست ها معمولاً رشته های بلندی به نام هیف ایجاد می کنند که ممکن است برای تولید شبکه‌ای به نام میسلیوم تولید شاخه کنند. از این نظر، این باکترهای با قارچ های رشته‌ای که گروهی از میکروارگانیسم های یوکاریوتی هستند، شباهت دارند. باکتری بیضی یا گلابی شکل *Hyphomicrobium* جوانه ای را از انتهای یک هیف بلند ایجاد می‌کند. باکتری های دیگر مثل *Gallionella* ایجاد ساقه های غیر زنده می کند. عملاً پروکاریوت های معدودی شکل تخت دارند. برای مثال ، آنتونی والش بای آرکی های مربعی شکل ساکن حوضچه های نمکی را کشف کرد. این باکتری ها شکلی شبیه جعبه های مربع مسطحی که به ابعاد $2\ \mu m$ در 2 تا $4\ \mu m$ و ضخامت $0/25\ \mu m$ دارند. در نهایت ، بعضی پروکاریوت ها شکل متغیر دارند و فاقد یک شکل مشخص و ثابت هستند. این باکتری ها را چند شکلی می‌نامند، هر چند که ممکن است برخی مثل *Corynebacterium* دارای شکل عمومی میله‌ای باشند.

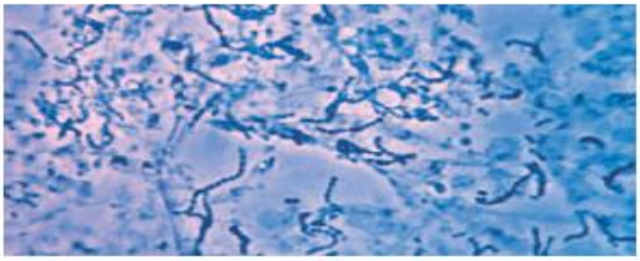
**نکته:**

1. بر خلاف کوکسی ها، باسیل ها فقط در یک سطح تقسیم می شوند. در حقیقت باسیل ها به صورت سلول های منفرد یا به صورت زنجیره های کوتان یا بلند دیده می شوند.
2. ویبریو ها گاهی اوقات به صورت مارپیچ یا $S$ شکل رشد می کنند.
3. اسپیریل ها دارای پیچ های سخت و غیر قابل انعطاف(دارای تاژه و متحرک)، ولی اسپیروکت ها دارای سلول فنری شکل و قابل انعطاف هستند

**Figure 3.1 Representative Bacteria.** Stained bacterial cultures as seen in the light microscope. (**a**) *Staphylococcus aureus*. Note the gram-positive spheres in irregular clusters. Gram stain (×1,000). (**b**) *Enterococcus faecalis*. Note the chains of cocci; phase contrast (×200). (**c**) *Bacillus megaterium*, a rod-shaped bacterium in chains. Gram stain (×600). (**d**) *Rhodospirillum rubrum*. Phase contrast (×500). (**e**) *Vibrio cholerae*. Curved rods with polar flagella (×1,000).

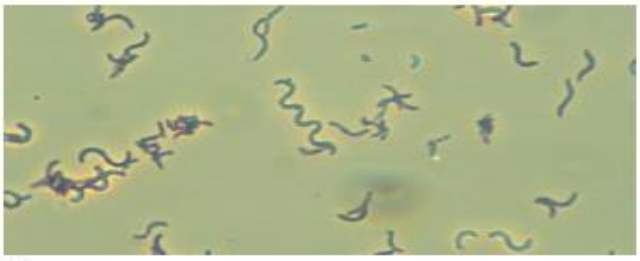


(a)

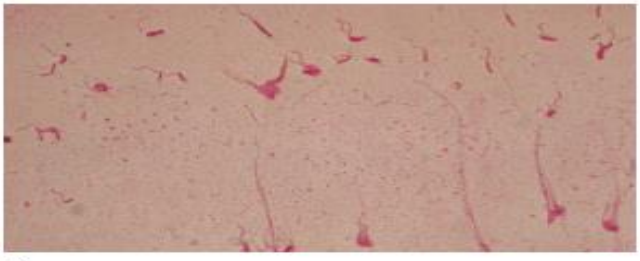


(b)

(c)



(d)



(e)

ابعاد باکترهای نیز به اندازه شکل آن ها متغیر است. *Escherichia* باکتری میله ای شکل با اندازه‌ای حدود 1/1 تا 1/5 µm پهنا و 2 تا 6 µm طول است. در نزدیکی مرز باکتری های کوچک، اعضای جنس مایکوپلاسما قرار دارند، که گروه جالبی از باکتر های فاقد دیوارهٔ سلولی هستند. برای سالیان درازی تصور می شد که *Mycoplasma* با قطری حدود 0/3 µm کوچک ترین پروکاربوت ها باشند که تقریباً هم اندازهٔ ویروس های آبله است. با وجود این، پروکاریوت های کوچک تر از این نیز کشف شده‌اند . نانوباکتری ها قطری حدود

$\mu m$ 0/2 تا کمتر $\mu m$ 0/05 دارند. از این باکترهای تنها چند سویه کشت داده شده است و جانداران باکتری مانند بسیار کوچکی به نظر می رسند. کشف نانوباکتری های بسیار هیجان انگیز بود، زیرا با محاسبات تئوری پیش بینی شده بـود کـه کوچـک تـرین سـلول ممکـن، قطری حدود $\mu m$ 0/14 تا $\mu m$ 0/2 داشته باشند. در مرز دیگر اندازهٔ باکتری ها، باکترهایی مثل اسپیروکت ها که طول آن ها می توانـد به $\mu m$ 500 هم برسد و باکتری فتوسنتز کنندهٔ *Oscillatoria* با قطری حدود $\mu m$ 7 ( قطری معادل با قطر گلبول قرمز) قرار دارند . در رودهٔ ماهی قهوه‌ای *Acanthurus nigrofuscus* باکتری عظیم الجثه‌ای به نـام *Epulopiscium fishelsoni* زنـدگی مـی کند که اندازه آن به 600 تا $\mu m$ 800 می‌رسدکه کمی کوچک تر از یک دش تایپی(خط فاصله) است. چندی پیش، حتی باکتری بـزرگ تری به نام *Thiomargarita namibiensis* در رسوبات اقیانوس کشف شد. از این رو، بعضی از باکتری ها اندازه ای بسیار بزرگ تر از متوسط اندازهٔ سلول یوکاریوتی ( سلول های معمول گیاهی وجانوری قطری حدود 10 تا $m\mu$ 50 دارند)، دارند.

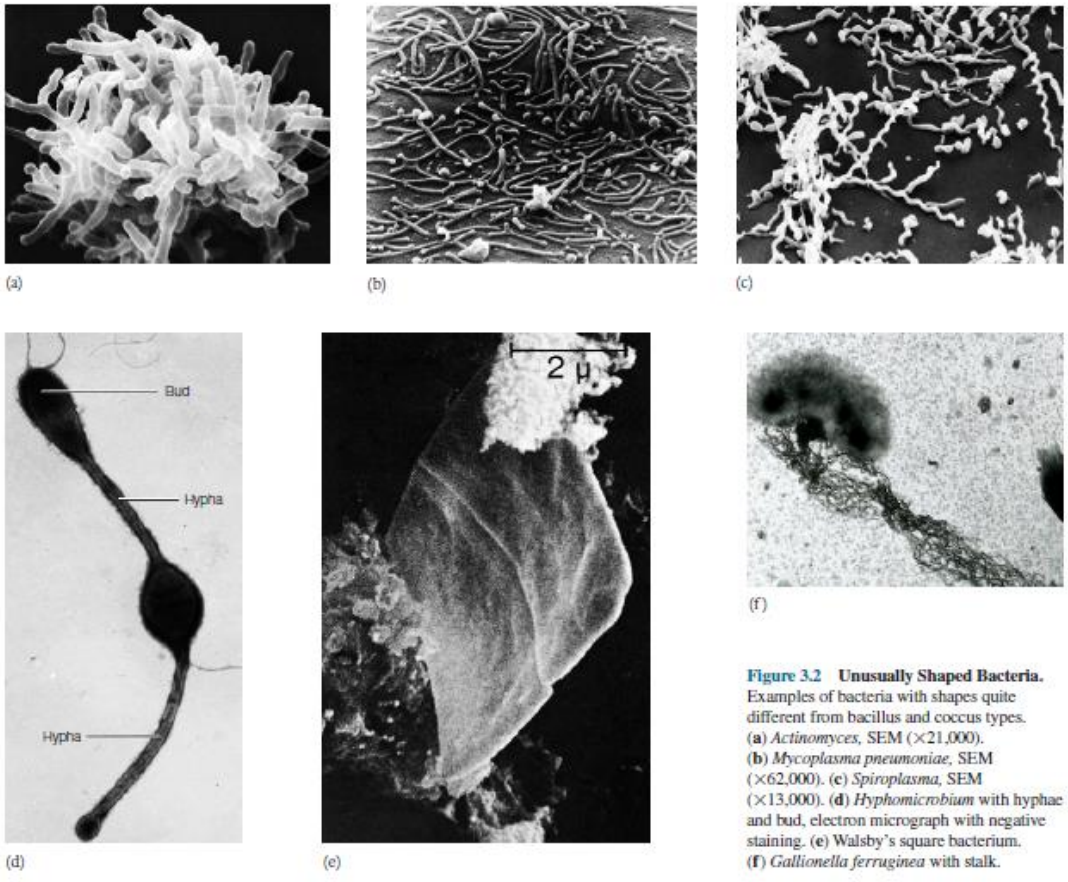



**Figure 3.2 Unusually Shaped Bacteria.** Examples of bacteria with shapes quite different from bacillus and coccus types. **(a)** *Actinomyces*, SEM (×21,000). **(b)** *Mycoplasma pneumoniae*, SEM (×62,000). **(c)** *Spiroplasma*, SEM (×13,000). **(d)** *Hyphomicrobium* with hyphae and bud, electron micrograph with negative staining. **(e)** Walsby's square bacterium. **(f)** *Gallionella ferruginea* with stalk.

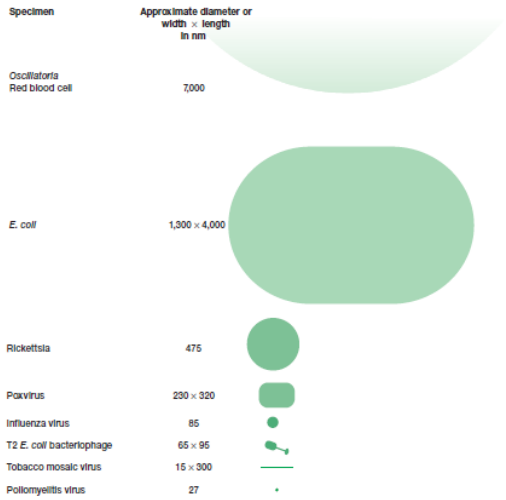



**Figure 3.3 Sizes of Bacteria and Viruses.** The sizes of selected bacteria relative to the red blood cell and viruses.

**نکته**

**1. باکتری های جوانه زن:** دو جنس از باکتری های جوانه زن بیشتر مطالعه شده اند: یکی هایفومیکروبیوم که شسمیو ارگانوتروف است و دیگری رودومیکروبیوم که فتوتروف است.هر دو ارگانیسم از نظر فیلوژنتیکی ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند و جوانه ها را از انتهای هیف های طویل نازک، آزاد می کنند. هیف یک بیرون زدگی مستقیم از سلول مادری است که حاوی دیواره سلولی، غشا سیتوپلاسمی، ریبوزوم و گاهی *DNA* است. هایفومیکروبیوم یک باکتری متیلوتروف است. منابع کربن ترجیحی، ترکیبات تک کربنه از قبیل متانول، متیل آمین، فرمالدئید و فرمات هستند.(برای درک بهتر مراحل تقسیم سلولی این باکتری به کتاب آزمایشگاه مراجعه فرمایید.

**2. باکتری های زائده دار و ساقه دار:** دو باکتری ساقه دار به طور معمول مشاهده می شوند: کالوباکتر و گالیونلا. کالوباکتر یک باکتری شیمیوارگانوتروف است که ساقه ای پر از سیتوپلاسم می سازد(یعنی یک زائده) در حالی که گالیونلا یک باکتری شیمیولیتوتروف اکسید کننده آهن است که ساقه آن از هیدروکسید آهن تشکیل شده است. یک ارگانیسم ساقه دار جالب دیگر گالیونلا است که ساقه پیچ خورده ای متشکل از هیدروکسید فریک دارد. با وجود این ساقه گالیونلا یک قسمت اینتگرال سلول نمی باشد ولی از سطح سلول ترشح می شود. این زائده حاوی ماتریکس آلی استکه هیدروکسید آهن بر روی آن تجمع می یابد.

## سازماندهی سلول پروکاریوتی

سلول های پروکاریوتی از نظر مورفولوژی ساده‌تر از سلول‌های یوکاریوتی هستند، نه این که تنها شکل ساده تر یوکاریوت ها باشند. گرچه ساختارهای بسیاری در هر نوع سلول مشترک هستند، بعضی ساختارها خاص پروکاریوت‌ها هستند. توجه داشته باشید که یک سلول پروکاریوتی به تنهای همهٔ این ساختارها را در تمام مراحل رشد خود به همراه ندارد. بعضی از ساختارها فقط در سلول‌های خاص و در شرایط ویژه و یا در مراحل خاصی از چرخهٔ زندگی یافت می شوند. علی رغم وجود چنین تنوعی در پروکاریوت ها، ساختارهای زیربنایی و اجزای بسیار حیاتی آن ها ثابت هستند.

در بیشتر موارد، سلول های پروکاریوتی با دیوارهٔ ویژه‌ای که دارای ترکیبات شیمیایی پیچیده‌ای است، محصور شده‌اند. در زیر این دیواره، غشایی پلاسمایی قرار دارد. غشای پلاسمای برای تشکیل ساختارهای غشای سادهٔ داخلی مثل غشای جمع کنندهٔ نور در بعضی باکترهای فتوسنتز کننده، چین خوردگی‌هایی به داخل پیدا می‌کند. از آن جایی که سلول پروکاریوتی دارای اندامک های غشادار داخل سلولی نیست، درون این سلول ساده به نظر می رسد. مواد ژنتیکی در ناحیهٔ مشخصی به نام نوکلئوئید قرار گرفته است و معمولاً فاقد غشایی برای جداد شدن از سیتوپلاسم اطراف خود است. ریبوزوم ها و توده های بزرگ‌تری به نام توده های اندوخته‌ای درماتریکس سیتوپلاسمی پراکنده هستند. بسیاری از پروکاریوت ها برای حرکت از تاژه ها استفاده می کنند. به علاوه بسیاری از آن ها با کپسول یا لایهٔ مخاطی در بیرون دیوارهٔ سلولی احاطه شده‌اند.

در بخش های بعدی این فصل ، ساختارهای اصلی پروکاریوتی را با جزئیات بیشتری توضیح خواهیم داد. برای شروع بحث از غشای پلاسمایی که مشخصهٔ همهٔ سلول‌ها است، استفاده می کنیم . سپس توجه خود را معطوف ساختارهای موجود در سیتوپلاسم می کنیم و بعد از آن به سراغ ساختارهای بیرونی سلول می رویم و ابتدا دیوارهٔ سلولی و سپس ساختارهای خارج از دیوارهٔ سلولی را مطرح می‌کنیم. در نهایت، ساختار انحصاری باکتری‌ها یعنی اندوسپور باکتریایی را مد نظر قرار می‌دهیم.

| جدول 3-1 | عملکرد ساختارهای پروکاریوتی |
|---|---|
| غشای پلاسمایی | سدی با نفوذ پذیر انتخابی ، مرزی مکانیکی سلول، ترابری مواد مغذی و زاید ، محل بسیاری از فرآیندهای متابولیکی ( تنفس ، فتوسنتز)، تشخیص علایم محیطی برای شیمیوتاکسی |
| واکوئل گازی | برای شناور شدن در محیط های آبی |
| ریبوزوم‌ها | سنتر پروتئین |
| توده های اندوخته‌ای | ذخیرهٔ کربن، فسفات و مواد دیگر |
| نوگلئوئید | محل قرارگیری مادهٔ ژنتیکی *(DNA)* |
| فضای پری پلاسمی | تعیین کنندهٔ شکل پروکاریوت‌ها و حفاظت در برابر استرس های اسمزی |
| کپسول ها و لایه های مخاطی | مقاومت به فاگوسیتوز، چسبیدن به سطوح |
| فیمبریه و پیلی | اتصال به سطوح، جفت گیری باکتریایی |
| تاژه‌ها | حرکت |
| اندوسپور | بقا تحت شرایط سخت محیطی |

## غشای سلولی پروکاریوت ها

غشاها نیاز واقعی همهٔ جانداران زنده هستند . میانکنش سلول ها با محیط اطراف شان باید انتخابی باشد، این محیط می‌تواند محیط داخلی یک جاندار پر سلولی یا محیط خارجی متغیر و کمتر حفاظت شده باشد. سلول ها علاوه بر آن که باید قادر به کسب مواد مغذی و حذف مواد زائد باشند، باید همچنین شرایط درونی خود را در وضعیتی ثابت و کاملاً سازماندهی شده‌ای در مقابل تغییرات بیرونی حفظ کنند.

غشای پلاسمای در هر دو سلول پروکاریوتی و یوکاریوتی سیتوپلاسم را احاطه می کند. این غشا محل اصلی تماس سلول با محیط است و لذا مسئول بسیاری از روابط آن با دنیای بیرون است. غشای پلاسمایی سلول های پروکاریوتی به واسطهٔ داشتن انواع بسیاری از نقش ها از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در پروکاریوت ها غشای پلاسمایی علاوه بر حفظ سپتوپلاسم ، به عنوان سدی با نفوذ پذیری انتخابی عمل می‌کند: یعنی به یون ها و مولکول‌های خاصی اجازهٔ عبور به داخل و خارج سلول را می‌دهد، در حالی که از عبور انواع دیگر جلوگیری می‌کند. بنابراین ، غشا از نشت اجزای ضروری و از دست دادن آن ها ممانعت می کند. از طرفی اجازهٔ عبو به مولکول‌های دیگر را می دهد. از آن جایی که بسیاری از مواد بدون کمک نمی توانند از غشا عبورکنند، در چین مواردی غشا باید به حرکت این مواد کمک کند.سیستم‌های انتقال در اعمالی مثل جذب مواد مغذی، برون ریزی موارد زائد و ترشح پروتئین استفاده می شوند. غشای پلاسمایی پروکاریوتی همچنین محلی برای انجام فرآیندهای متابولیکی مهم دیگری مثل تنفس، فتوسنتز و ساخت لیپید و اجزای دیوارهٔ سلولی است. در نهایت، غشا دارای مولکول‌های گیرندهٔ ویژه‌ای است که به پروکاریوت‌ها در تشخیص و پاسخ به مواد شیمیایی محیط پیرامونش کمک می کند. پر واضح است که غشای پلاسمایی برای بقای میکروارگانیسم ها ضروری است.

همان طوری که در ادامهٔ بحث روشن خواهد شد، همهٔ غشاها ظاهراً دارای یک طرح پایه‌ای و مشترک هستند. با وجود این، غشاهای پروکاریوتی از نظر محتوای لیپیدی ممکن است کاملا متفاوت باشند. در واقع، با استفاده از تفاوت در شیمی غشاها می توان گونه‌های خاصی از باکتری ها را تشخیص داد. برای فهم بهتر این تفاوت های شیمیایی و همچنین عملکردهای متنوع غشای پلاسمایی، آشنایی با ساختار غشا ضروری به نظر می‌رسد. در این بخش ابتدا پایهٔ مشترک همهٔ غشاها بحث می‌شود و در ادامه به اختلافات عمدهٔ بین غشاهای باکتریایی و آرکی‌ها اشاره خواهد شد.

### نکته

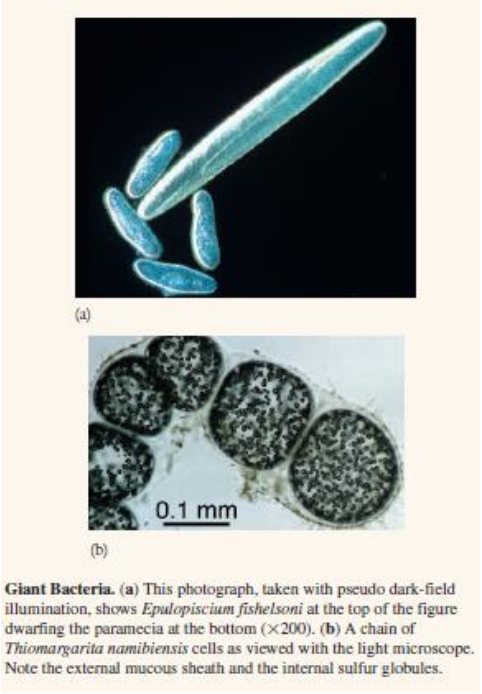
هنگامی که فیشل سون، مونت گومری و میر برگ، میکروارگانیسم سیگاری شکل بزرگی را در دستگاه گوارش ماهی سورگه اون قهوه ای ساکن دریای سرخ به نام *Acanthurus nigrofuscus* کشف کردند، در مقالهٔ خود در سال 1985 آن را به عنوان تک یاخته معرفی کردند. این میکرو ارگانیسم بزرگ تر از آن بود که به چیز دیگری شبیه باشد. در سال 1993، ایسترانگرت ، کندالکلمنس و نورمن پیس از مقایسهٔ توالی *16SrRNA* برای شناسایی این میکروارگانیسم استفاده کردند، که اکنون به عنوان یک پروکاریوت منسوب به جنس کلستریدیوم از باکتری‌های گرم مثبت، با نام *Epulopiscicium fishelsoni* شناخته می‌شود. *E. fishelsoni* [ در بیان لاتین *epulum* به معنی عید و میهمانی و *piscium* به معنی ماهی است] می‌تواند اندازه ای حدود$80\mu m \times 600\ \mu m$ داشته باشد و به طور معمول طولی حدود 200 تا $500\ \mu m$ ( شکل صفحه بعد) .

حجم این باکتری حدود یک میلیون برابر حجم *Escherichia coli* است . علی رغم این جثهٔ عظیم این جاندار دارای ساختار پروکاریوتی است. این میکروارگانیسم متحرک بوده و با استفاده از تاژهایی که در سطح آن قرا گرفته است. در عرض یک ثانیه حدود دو برابر طول خود شنا می‌کند ( تقریباً *2/4 cm/min*). سیتوپلاسم این باکتری دارای نوکلئوئید بزرگ وتعداد زیادی ریبوزوم است که برای چنین سلول بزرگی قابل انتظار است. *Epulopiscicium* ظاهراً مشکل اندازهٔ بزرگ خود را از طریق داشتن غشای سیتوپلاسمی کاملاً پیچیده و تنظیم انتشار مواد بر طرف می کند. این امر سبب افزایش سطح سلول و کمک به ترابری مواد مغذی می‌شود.

به نظر می‌رسد که *Epulopiscicium* از طریق آلودگی مدفوعی غذای ماهی در بین میزبان ها منتقل می شود. با گرسنه نگه داشتن ماهی برای چند روز می توان باکتری را حذف کرد. اگر ماهی های جوان فاقد این باکتری با میزبان های آلوده به باکتری در یک محل قرار داده شوند، ماهی‌های جوان آلوده می‌شوند. نکتهٔ جالب این که این نحوهٔ آلوده سازی برای ماهی‌های بالغ انجام نمی‌پذیرد.

در سال 1997 ، هائیدی شولز در رسوبات اقیانوس در ساحل نامیبیا پروکاریوتی بزرگ تر از آن کشف کرد. *Thiomargarita namibiensis* باکتری کروی شکل با قطری حدود 100 تا $750\ \mu m$ است که اغلب در غلاف های مخاطی دیده می شود. حجم این باکتری صد برابر بیشتر از حجم *E. fishelsoni* است. حدود 98٪ حجم سلول را واکوئلی اشغال می کند که حاوی مایعی غنی از نیترات است.این واکوئل با یک لایه‌ای از سیتوپلاسم مملو از دانه‌های گوگردی به ضخامت 0/5 تا$2\ \mu m$ احاطه شده است. این ضخامت لایهٔ سیتوپلاسمی مشابه با سیتوپلاسم همهٔ باکتری‌ها است و به حد کافی نازک است که بتواند سرعت انتشار مناسبی داشته باشد. این باکتری از گوگرد به عنوان منبع انرژی و از نیترات به عنوان گیرندهٔ الکترون‌های آزاد شده طی فرآیندهای انرژی گیر اکسیداسیون گوگرد

استفاده می‌کند. کشف این پروکاریوت امکان تمایز پروکاریوت‌ها و یوکاریوت ها را بر اساس اندازهٔ سلول به شدت تضعیف کرده است. این باکتری ها به طور قابل محسوسی بزرگ تر از سلول طبیعی یوکاریوتی هستند. امکان تمایز اندازه‌ای بین پروکاریوت ها و یوکاریوت ها با کشف سلول‌های یوکاریوتی با اندازه‌ای کوچک‌تر ازآن‌چه که قبلاً تصور می‌شود، بیشتر تضعیف شده است. بهترین مثال از این دست *Nanochlorum eukaryotum* است. این سلول فقط 1 تا 2 $\mu m$ قطر دارد اما یک یوکاریوت واقعی است و دارای یک هسته، یک کلروپلاست و یک میتوکندری می‌باشد. دانسته های ما از عوامل محدود کننده اندازهٔ سلول پروکاریوت نیازمند بازبینی است. دیگر با اطمینان نمی‌توان گفت که سلول‌های بزرگ یوکاریوت و سلول‌های کوچک پروکاریوت باشند.




**Giant Bacteria.** (**a**) This photograph, taken with pseudo dark-field illumination, shows *Epulopiscium fishelsoni* at the top of the figure dwarfing the paramecia at the bottom (×200). (**b**) A chain of *Thiomargarita namibiensis* cells as viewed with the light microscope. Note the external mucous sheath and the internal sulfur globules.

## مدل موزائیک سیال ساختار غشا

برای بیان ساختار غشاء مدل موزائیک سیال سینگر و نیکولسون مدل مورد قبول اکثریت است، در این مدل غشاها را به صورت دو لایه لیپیدی در نظر می‌گیرند که درون آن پروتئین‌ها شناور هستند. این مدل بر پایهٔ مطالعات روی غشاهای یوکاریوتی و باکتریایی مطرح و با استفاده از انواع روش های عملی اثبات شده است. در این زمینه، مطالعات با میکروسکوپ الکترونی گذاره از اهمیت ویژه ای برخوردار است. هنگامی که غشاها رنگ آمیزی و با $TEM$ مطالعه شدند، مشاهده شد که غشاهای سلولی ساختارهای بسیار نازکی به ضخامت تقریبی 5 تا 10 $\mu m$ هستند و به صورت دو خط تیره در دو طرف یک ناحیهٔ بی رنگ داخلی به نظر می رسند. ظاهر ویژه مشاهده شده برای غشا چنین تفسیر شد که لیپید غشا به صورت دو صفحه با آرایش مولکولی انتها به انتها سازماندهی شده‌اند. هنگامی که از روش انجماد شکست برای شکافتن غشاها استفاده می‌شود، غشاها از میان دو لایهٔ لیپیدی باز می‌شوند که ساختار پیچیدهٔ داخلی آن‌ها در معرض قرار می‌گیرد. درون دو لایهٔ لیپیدی ذرات کروی کوچکی قابل مشاهده هستند، تصور می‌شود که این ذرات پروتئین‌های غشایی باشند که درون دو لایهٔ لیپیدی قرار گرفته‌اند. استفاده از میکروسکوپ با نیروی اتمی تصاویر قدرتمندی را برای تایید این مطالب فراهم آورده است.

طبیعت شیمیایی لیپیدهای غشا در توانایی آن ها برای تشکیل دو لایه بسیار حیاتی است. اغلب لیپیدهای درگیر در ساختار غشا ساختمانی غیر متقارن با انتهاهای قطبی و غیر قطبی دارند و به لیپیدهای دوگانه دوست معروف هستند. انتهای قطبی مولکول‌ها با آب میانکنش می‌دهند و آب دوست هستند؛ انتهاهای غیر قطبی آب گریز و نامحلول در اب هستند و تمایل به قرار گیری در کنار هم دارند. در محیط های آبی لیپیدهای دوگانه دوست برای تشکیل دو لایه می توانند با هم میانکنش دهند. سطوح بیرونی غشای دولایه آب دوست است اما انتهاهای آب گریز با قرار گیری در بخش داخلی دور از آب اطراف قرار گرفته‌اند.

بر اساس رفتار پروتئین ها در جداسازی از غشا دو نوع پروتئین شناسایی شده است . پروتئین های محیطی اتصال سستی با غشا دارند و به راحتی کنده می‌شوند. این پروتئین ها محلول در آب هستند و حدود 20 تا 30 درصد کل پروتئین های غشا را تشکیل می دهند. حدود 70-80 درصد بقیه پروتئین های غشا به پروتئین های سرتاسری معروف هستند. این پروتئین ها را نمی توان به سهولت از غشا استخراج کرد و هنگام جدا شدن از لیپیدها در محلول‌های آبی نامحلول هستند. پروتئین های سرتاسری همانند لیپیدهای غشا دوگانه دوست هستند؛ نواحی آب گریز آن ها در لیپید محصور شده است ولی بخش‌های آب دوست آن ها از سطح غشا خارج شده اند. پروتئین های سرتاسری

درون غشا می‌توانند در عرض حرکت کرده و به محل جدیدی بروند ولی نمی توانند سروته شوند یا درون لایهٔ لیپیدی حول خود بچرخند. اغلب کربوهیدرات ها به سطح بیرونی پروتئین های غشا پلاسمایی متصل هستند و در آن جا عملکردهای مهمی را برعهده دارند.

## غشاهای باکتریایی

غشاهای باکتریایی از نظر داشتن مقادیر زیادی از فسفولیپیدها به عنوان لیپیدهای دوگانه دوست ، با غشاهای یوکاریوتی شباهت دارند، اما تفاوت آن ها معمولاً به علت نداشتن استرول‌ها ( لیپیدهای حاوی استروئید) مثل کلسترول، است. پیش سازه های سنتز هوپانوئیدها با پیش سازهای استرولی یکسان است و احتمالاً همانند استرول‌های غشاهای یوکاریوتی سبب پایداری غشا می‌شوند. هوپانوئیدها همچنین از نظر اکولوژیست ها و زمین شناسان جالب توجه هستند؛ تخمین زده می‌شود که کل جرم هوپانوئید های موجود در رسوبات حدود $10^{11-12}$ تن باشد ( تقریباً معادل با کل جرم کربن آلی موجود در تمام موجودات زنده ( $10^{12}$ تن ) و شواهدی دال بر این نکته وجود دارد که هوپانوئیدها نقش عمده‌ای در تشکیل نفت داشته‌اند.

تصویر به دست آمده از غشاهای پلاسمایی باکتریایی یکی از سیستم های نامتقارن و سازمان یافته‌ای است که بسیار انعطاف پذیر و دینامیک نیز است. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که لیپیدها توزیع ناهمگونی در فضای پلاسمایی دارند. دمین‌هایی در غشاها وجود دارند که در آن ها لیپیدهای خاص متمرکز شده‌اند. همچنین بررسی ها نشان داده‌اند که ترکیب لیپیدهای غشاهای باکتریایی با تغییر دمای محیط به نحوی تغییر می یابدکه سیالیت غشا در طول دورهٔ رشد حفظ شود. مثلاً باکتری‌هایی که در دماهای پایین تر رشد می کنند در ترکیب فسفولیپیدی غشای خود اسیدهای چرب با نقطهٔ ذوب پایین تر دارند.

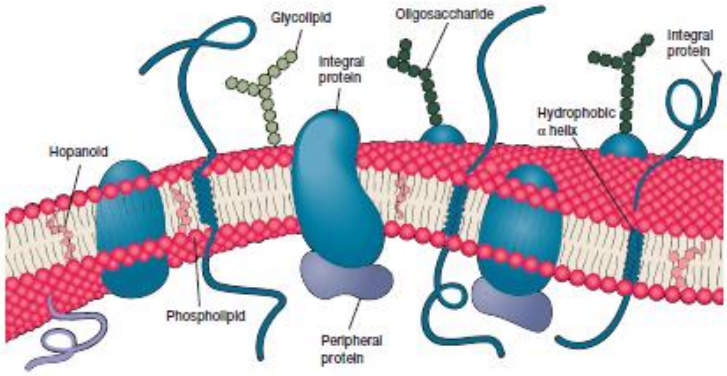



**Figure 3.7 Plasma Membrane Structure.** This diagram of the fluid mosaic model of bacterial membrane structure shows the integral proteins (blue) floating in a lipid bilayer. Peripheral proteins (purple) are associated loosely with the inner membrane surface. Small spheres represent the hydrophilic ends of membrane phospholipids and wiggly tails, the hydrophobic fatty acid chains. Other membrane lipids such as hopanoids (pink) may be present. For the sake of clarity, phospholipids are shown in proportionately much larger size than in real membranes.

ساختار غشای پلاسمایی با کتری های . این تصویر از مدل موزائیک سیال غشای باکتریایی پروتئین ها سرتاسری غوطه ور در دو لایهٔ لیپیدی را نشان می دهد. پروتئین های محیطی با اتصال سستی به سطح داخلی غشا متصل هستند. اشکال گرد کوچک نشان دهندهٔ انتهاهای آب دوست فسفولیپیدها و دم های رشته ای نشان دهندهٔ زنجیره‌های اسید چرب آب گریز آن ها است. لیپیدهای دیگر غشا مثل هوپانوئیدها ممکن است وجود داشته باشد. به خاطر وضوح بهتر تصویر، فسفولیپیدها در مقیاسی بسیار بزرگ تر از اندازه واقعی نشان داده شده است.

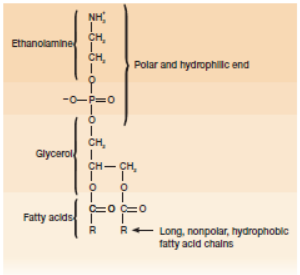



**Figure 3.5 The Structure of a Polar Membrane Lipid.** Phosphatidylethanolamine, an amphipathic phospholipid often found in bacterial membranes. The R groups are long, nonpolar fatty acid chains.

ساختار لیپید قطبی غشا. فسفاتیدل اتانول آمین فسفولیپید دوگانه دوستی است که اغلب در غشاهای باکتریایی یافت می‌شود. گروه های $R$ نشان دهندهٔ زنجیره های بلند غیر قطبی اسیدهای چرب است.

اگر چه پروکاریوت ها دارای اندامک های غشادار پیچیده ای مثل میتوکندری ها یـا کلروپلاسـت هـا نیسـتند ولـی در بعضـی بـاکتری هـا ساختارهای غشادار درونی قابل مشاهده است. چین خـوردگی هـای غشـای پلاسـمایی در بسـیاری از باکتری‌هـا امـری شـایع اسـت و در باکتری‌های فتوسنتز کننده مثل سیانوباکتری‌ها و سیانوباکتری های ارغوانی ، یا در باکتری‌های شوره گذارکه فعالیت تنفسی بسـیار بـالایی دارند، این چین خوردگی ها می توانند پیچیده و گسترده باشند. این ساختارهای غشایی درونی ممکن است به صورت وزیکول‌هـای کـروی، مسطح و یا غشاهای لوله مانند تجمع یابند. یکی از ساختارهای غشایی که گاهی در باکتری ها گزارش می‌شود. مزوزوم است. مـزوزوم هـا ظاهراً فرورفتگی‌هایی از غشای سیتوپلاسمی به اشکال وزیکولی، لوله‌ای یا صفحه‌ای می باشند. با وجود آن که عملکرد های مختلفی را به مزوزوم ها نسبت می‌دهند ولی بسیاری از باکتری شناسان بر این باورند که آن ها آرتی فکت می باشند. که در طی مراحل تثبیت شـیمیایی باکتری های برای مطالعه با میکروسکوپ الکترونی ایجاد شده‌اند.

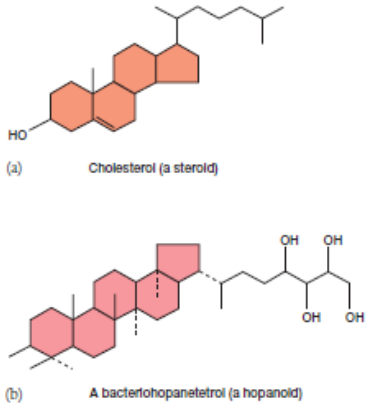



**Figure 3.6 Membrane Steroids and Hopanoids.** Common examples.

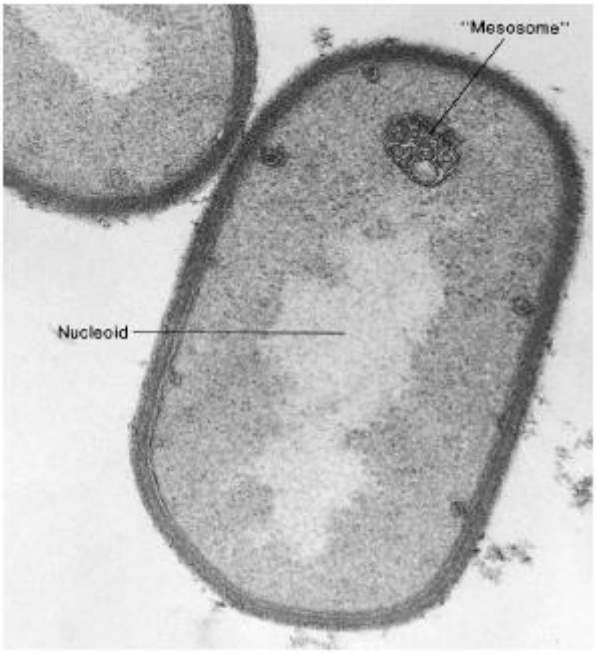
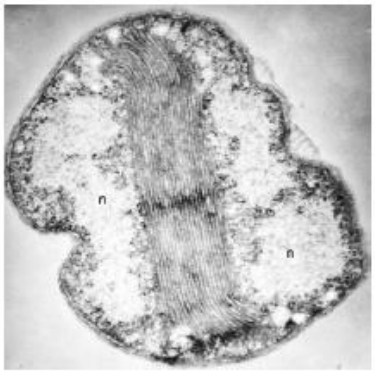



**Figure 3.8 Mesosome Structure.** *Bacillus fastidiosus* (×91,000). A large mesosome lies adjacent to the nucleoid.




(a)

(b)

**Figure 3.9 Internal Bacterial Membranes.** Membranes of nitrifying and photosynthetic bacteria. (**a**) *Nitrocystis oceanus* with parallel membranes traversing the whole cell. Note nucleoplasm (n) with fibrillar structure. (**b**) *Ectothiorhodospira mobilis* with an extensive intracytoplasmic membrane system (×60,000).

غشاهای درونی باکتری ها. غشاهای باکترهای فتوسنتز کننده و شوره گذار ( الف) باکتری *Nitrocystis oceanus* با غشاهای موازی کـه در کـل سـلول کشـیده شده‌اند . به ساختار فیبریلی نوکلئوپلاسم (*n*) توجه نمائید( ب) *Ectothiorhodospira mobilis* باسیستم غشایی گستردهٔ درون سیتوپلاسمی ( 60000×)

**نکته**

1. رنگ آمیزی اختصاصی در مورد غشا سیتوپلاسمی" ویکتوریا بلو" می باشد.
2. اعمال غشا سیتوپلاسمی عبارتند از:

الف. نفوذپذیری انتخابی یا سد اسمتیک

ب. دفع اگزوآنزیم ها(پروتئین های ترشحی باکتری)

ج. نقش معادل میتوکندری در تولید انرژی

د. نقش در تقسیم سلولی و تقسیم *DNA* باکتری

ه. جایگاه آنزیم های موثر در همانند سازی *DNA*، سنتز دیواره و ضمائم

و. جایگاه حامل 55 کربنه باکتوپرنول(اندوکاپرنول)

ز. جایگاه کمورسپتورها مثل پروتئین های پذیرنده متیل(*MCPs*) (دارا بودن گیرنده ها و پروتئین هـایی کـه بـا سیسـتم شیمیوتاکسـی و حرکت در پاسخ به عوامل محیطی یا انتقال حسی دخالت دارند)

ح. وجود آنزیم های ترانس پپتیداز و کربوکسی پپتیدازها(*PBPs*) که همان پروتئین های متصل شونده به پنی سیلین ها هستند و جایگـاه تاثیر آنتی بیوتیک های بتالاکتام می باشد.

ط. غشا سیتوپلاسمی بعضی از آنزیم های ضروری برای سنتز و انتقال پپتیدوگلیکان،تیکوئیک اسید و اجزای تشکیل دهنده غشا خارجی یـا (*LPS*) را داراست.

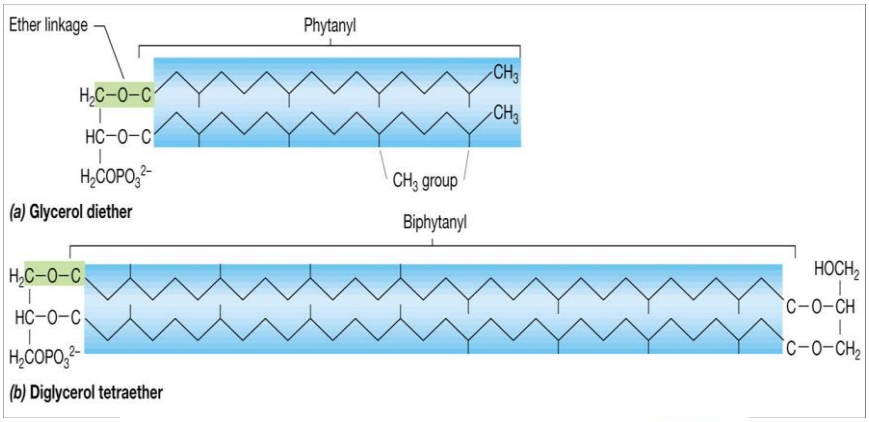
3. منشا پیلای و فلاژل باکتری ها در غشا سیتوپلاسمی وجود دارد.

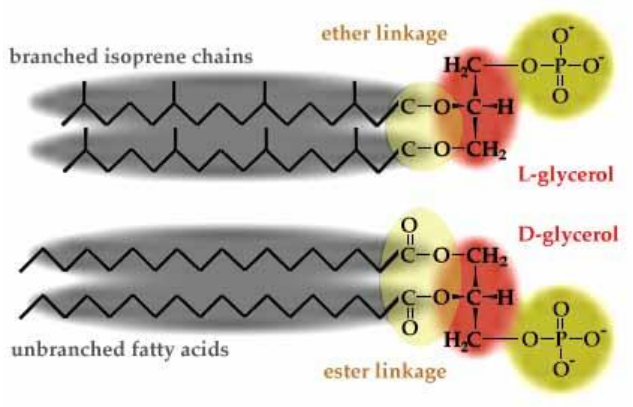
**نکته**

1. غشا سیتوپلاسمی بر خلاف غشا خارجی باکتری های گرم منفی که قسمت اعظم آن را فسفولیپیدها تشکیل می دهند، بیشتر از پروتئین تشکیل شده است. 70-60 درصد پروتئین، 30-20درصد فسفولیپید و مقداری کربوهیدرات هم وجود دارد.
2. بیشترین نیرویی که سبب حفظ غشا می گردد نیروهای هیدروفوبیک‌اند(آب گریز) که امکان سیالیت و عبور آزاد به مواد متشکل غشا را می دهند. به منظور رشد سلول حداقل 50 درصد از غشا سیتوپلاسمی باید در حالت نیمه جامد باشد که در دماهای پایین افزایش سنتز و الحاق اسیدهای چرب غیر اشباع این امکان را فراهم می کند(سیالیت غشا را افزایش می دهند).
3. فسفولیپید های *E.coli* تقریبا 75درصد فسفاتیدیل اتانول آمین(سفالین)،20 درصد فسفاتیدیل گلیسرول و بقیه شامل کاردیولیپین( دی فسفاتیدیل گلیسرول)، فسفاتیدیل سرین و مقادیر ناچیزی از سایر فسفولیپید ها می باشد.
4. برخی از کاتیون های دو ظرفیتی مانند کلسیم و منیزیم با تشکیل پیوندهای یونی با بار منفی فسفولیپیدها به پایداری این غشا کمک می کنند.
5. پروتئین های محیطی، لیپوپروتئین هایی هستند که توسط یک دم لیپیدی در انتهای آمینوی پروتئین در غشا سیتوپلاسمی لنگر انداخته اند. این گونه پروتئین ها تحت عنوان پروتئین های غشایی متصل شونده به لیپید نامیده می شوند.
6. استرول تقریبا در غشا همه پروکاریوت ها(به استثنای باکتری های متانوتروف و مایکوپلاسما) وجود ندارند.
7. هپانوئید ها مشتقات تری ترپنوئید ها هستند. دیپلوپتن یک هپانوئید 30 کربنه است که توزیع گسترده ای در باکتری ها دارد. تاکنون هپانوئید در آرکی ها گزارش نشده است.
8. غشا باکتری ها مقدار متفاوتی از گروه های اسید چرب اشباع و غیر اشباع دارند که نسبت آن ها به دمایی که باکتری ها رشد داده می شوند بستگی دارد. میزان گروه های اسید چرب غیر اشباع در لیپید غشاهای باکتریایی با دما نسبت عکس دارد، یعنی اسیدهای چرب غیر اشباع در باکتری هایی که در دمای پائین رشد می کنند بیشتر است. زیرا اسیدهای چرب غیر اشباع دارای نقطه ذوب پائین تر بوده و حالت مایع و سیالیت در گروه های اسیدهای چرب آن ها دیده می شود.
9. برخلاف بیوسنتز استرول ها، بیوسنتز هپانوئید محتاج مرحله اکسیداسیون نبوده و بنابراین اکسیژن مولکولی برای بیوسنتز هوپانوئید لازم نیست ولی اکسیژن برای سنتز استرول ها لازم است. هپانوئید در پروکاریوت های بی هوازی یافت می گردند، همچنین در هوازی‌ها نیز وجود دارند ولی به طور وسیع در بین گروه های مشخصی از بی هوازی ها به خصوص در باکتری های فتوتروف انتشار دارند.

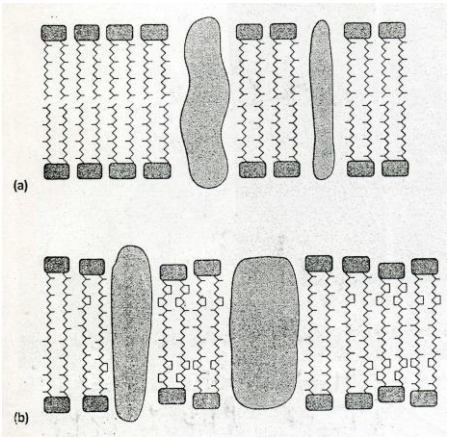
## غشا سیتوپلاسمی در آرکی ها

یکی از بارزترین ویژگی‌های آرکی ها ماهیت لیپیدهای غشای آن ها است. تفاوت آرکی ها با باکتری ها و یوکاریوت ها در این است که آرکی ها به جای داشتن اسید های چرب متصل به گلیسرول با پیوند استری، دارای هیدروکربن‌های شاخه دار متصل به گلیسرول با پیوند اتری هستند. گاهی دو گلیسرول برای تشکیل یک تترا اتر بسیار بلند به هم متصل می‌شوند. طول زنجیره‌های هیدروکربنی دی اتر معمولاً 20 کربن است ولی زنجیره‌های تترا اتر 40 کربن طول دارند. سلول ها می توانند با حلقوی کردن زنجیره‌ها و تشکیل حلقه‌های پنج ضلعی، طول کلی تترا اترها را تنظیم کنند. گروه های حاوی فسفات، گوگرد و قند می‌توانند به کربن سوم دی اترها و تترا اترها متصل شده و آن ها را به لیپیدهای قطبی تبدیل کنند. این نوع لیپیدها در غشا غالب هستند و70 تا 93 درصد لیپیدهای غشا را تشکیل می دهند. بقیهٔ لیپیدها غیر قطبی بوده و معمولا از اسکوالن مشتق شده اند. علی رغم وجود این اختلافات عمده در لیپیدهای غشا، طرح پایهٔ غشاهای آرکی‌ها با طرح غشاهای باکتریایی و یوکاریوتی مشابهت دارد ( در این جا نیز دو سطح آب دوست و یک بخش مرکزی آب گریز وجود دارد). هنگامی که غشا از دی اترهای بیست کربنه $(C_{20})$ تشکیل شده باشد، غشا به شکل دولایهٔ منظم خواهد بود. ولی هنگامی که غشا از تترا اترهای چهل کربنه $(C_{40})$ تشکیل می‌شود، غشایی تک لایه با استحکام بسیار بیشتر به وجود می آید. همان طوری که می توان انتظار داشت در آرکی های به شدت گرما دوست مثل *Thermoplasma* و *Sulfolobus* که در دماهای بالای $85^{o}C$ بهترین رشد را دارند، غشاها نیازمند پایداری بیشتری هستند. در این آرکی ها تقریبا کل غشا از تک لایهٔ تترا اتری تشکیل شده است . آرکی هایی که در محیط های با دمای متوسط رشد می کنند دارای غشاهایی هستند که در بعضی نواحی به شکل تک لایه و در نواحی دیگر دو لایه هستند.




**لیپید های غشا آرکی ها**




**مثال هایی از غشاهای آرکی‌ها. ( الف) غشایی از پروتئین های سرتاسری و دو لایهٔ لیپید از دی اترهای $C_{20}$. ( ب) یک تک لایهٔ محکم متشکل از پروتئین های سرتاسری و ترا اترهای $C_{40}$.**

**نکته:**

1. بر خلاف لیپیدهای موجود در باکتری ها و یوکاریوت ها که در آن ها اتصال اسیدهای چرب با مولکول های گلیسرول از نوع پیوندهای استری می باشد، لیپیدهای حاصل از آرکی باکتری ها اتصال بین گلیسرول و زنجیره های جانبی هیدروفوب آن ها از نوع پیوندهای اتری است. به علاوه ، لیپیدهای آرکی باکتری ها فاقد اسید های چرب هستند و به جای آن، زنجیره های جانبی دارند که از واحد های تکرار شونده یک هیدروکربن 5 کربنه به نام ایزوپرن تشکیل شده است.

2. گلیسرول دی اترها و گلیسرول تترا اترها، رده های اصلی لیپیدهای موجود در آرکی باکتری ها می باشند. باید توجه داشت که در مولکول تترااتر، زنجیره های جانبی فیتانیل( که از 4 مولکول ایزوپرن متصل به هم تشکیل شده است) در هر مولکول گلیسرولبه طور کووالانبه همدیگر متصل می شوند. به کار گیری این لیپیدها در ساختار غشا، باعث ایجاد یک لیپید تک لایه( به جای لیپید دولایه) در آرکی هامی گردد.

## ماتریکس سیتوپلاسمی

ماتریکس سیتوپلاسمی مادۀ زمینه‌ای است که نوکلئوئید، ریبوزوم ها و توده‌های اندوخته‌ای در آن پراکنده هستند. ماتریکس سیتوپلاسمی فاقد اندامک‌های محصور در دو لایۀ آبکی است( حدود 70٪ تودۀ باکتری‌آب است). تا چندی پیش تصور می‌شد که ماتریکس سیتوپلاسمی فاقد اسکلت سلولی باشد. به غشای پلاسمایی و هر چه در آن است، پروتوپلاست می‌گویند؛ از این‌رو ماتریکس سیتوپلاسمی بخش اعظم پروتوپلاست را تشکیل می‌دهد.

## اسکلت سلولی پروکاریوت ها

در مطالعۀ ماتریکس سیتوپلاسمی پروکاریوت‌ها با میکروسکوپ الکترونی، این ماتریکس مملو از ریبوزوم ها است. برای سالیان متمادی تصور می‌شد که پروکاریوت ها به علت نداشتن اسکلت سلولی، سازماندهی پیچیدۀ مشاهده شده در سلول های یوکاریوتی را نداشته باشند. بررسی‌های اخیر وجود ساختارهای مشابه با هر سه نوع ساختار اسکلت سلولی یوکاریوتی ( ریز رشته‌ها، رشته های حد واسط و ریز لوله‌ها) را در باکتری نشان داده‌اند و یکی از این ساختارها نیز در آرکی ها شناسایی شده است. رشته های اسکلت سلولی پروکاریوت ها از نظر ساختاری با رشته‌های همسان در یوکاریوت‌ها مشابه بوده و عملکردهای مشابهی را بر عهده دارند: این رشته‌ها در تقسیم سلولی، متمرکز کردن پروتئین‌ها به محل های خاصی از سلول و تعیین شکل سلول نقش دارند.

| پروتئین اسکلت سلولی پرو کاریوتی | | |
|---|---|---|
| پروتئین پروکاریوتی( همسان یوکاریوتی) | عملکرد | توضیحات |
| *FtsZ* ( توبولین) | در تقسیم سلولی | به طور گسترده‌ای در باکتری های و آرکی ها دیده می‌شوند |
| *Mb1* ( اکتین) | در شکل سلولی | در بسیاری از باکتری‌های میله‌ای شکل مشاهده می‌شود این پروتئین در *Bacillus subtlis* به *Mb1* معروف است |
| کرستنین ( پروتئین های رشتۀ حد واسط) | در شکل سلول | در *Caulobacter* کشف شد. |

## توده‌های اندوخته ای

توده های اندوخته ای دانه‌هایی از مواد آلی یا معدنی موجود در ماتریکس سیتوپلاسمی است که اغلب به وضوح با میکروسکوپ نوری قابل رویت هستند. این توده‌ها معمولاً برای ذخیره( مثلاً ترکیبات کربنی، مواد معدنی و انرژی) استفاده می‌شوند و با گرد آوردن مولکول در اشکال ویژه، فشار اسمزی را نیز کاهش می‌دهند. بعضی توده‌های اندوخته‌ای در سیتوپلاسم به شکل آزاد وجود دارند( برای نمونه، دانه‌های پلی فسفات، دانه‌های سیانوفیسین و بعضی دانه های گلیکوژن ). توده‌های اندوخته‌ای دیگر با یک پوسته‌ای به ضخامت حدود تا $4\mu M$ محصور هستند. این پوسته تک لایۀ است و ممکن است از پروتئین ها یا ساختار غشایی از جنس پروتئین و فسفولیپیدها ساخته شده باشد. مثال‌هایی از توده‌های اندوخته‌ای محصور، دانه‌های پلی – بتا – هیدروکسی بوتیرات، بعضی دانه‌های گلیکوژن و سـولفور ، کربوکسی زوم‌ها و واکوئل های‌گازی هستند. بسیاری از توده‌های اندوخته‌ای نقش ذخیره‌ای دارند؛ مقدار این توده‌ها با وضعیت غذایی سلول تغییر خواهد کرد. مثلاً دانه‌های پلی فسفات در زیستگاه‌های آب شیرین که مقادیر فسفات محدود است، کاهش می‌یابد. در زیر توضیح مختصری از چند اندوخته‌ای مهم آورده شده است.

توده‌های اندوخته‌ای آلی معمولاً حاوی گلیکوژن یا پلی – بتا- هیدروکسی آلکانوات ها( مثلاً، پلی – بتا- هیدروکسی بوتیرات) هستند. گلیکوژن پلیمری از واحد های گلوکز در شکل زنجیره های بلندی است که با پیوندهای گلیکوزیدی($\alpha`(1\rightarrow 4$) و شاخه هایی که با پیوندهای ($\alpha`(1\rightarrow 6$) به هم متصل شده‌اند. پلی – بتا – هیدورکسی بوتیرات *(PHB)* حاوی مولکول های ß- هیدروکسی بوتیراتی هستند که با پیوندهای استری بین گروه‌های کربوکسیل و هیدروکسیل مولکول‌های مجاور به هم متصل شده‌اند. در هر گونه معمولاً تنها یکی از این پلیمرها یافت می‌شوند، اما بعضی باکتری‌های فتوسنتز کننده هر دو نوع تودۀ گلیکوژنی و *PHB* را دارند. پلی– بتا– هیدروکسی بوتیرات در توده‌های مشخصی با قطر حدود 0/2 تا$0/7\mu m$ تجمع می یابد که به سهولت با رنگ‌آمیزی سودان سیاه در میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است و در میکروسکوپ الکترونی به صورت حفرات تو خالی دیده می‌شوند. این منظره در میکروسکوپ الکترونی ناشی از استفاده حلال‌های آلی در مراحل آماده سازی نمونه ها برای میکروسکوپ الکترونی است که این توده‌های اندوخته‌ای آب گریز را حل می کند. گلیکوژن به صورت دانه‌های کوچک در سرتاسر ماتریکس سیتوپلاسمی پراکنده است(دانه‌های با قط 20 تا 100 *nm* ) و اغلب فقط با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده است. اگر سلول ها حاوی مقادیر زیادی گلیکوژن باشند در رنگ آمیزی با محلول ید

به رنگ قهوه‌ای سوخته در می‌آیند. توده‌های اندوخته‌ای گلیکوژن و $PHB$ مخازنی برای ذخیرهٔ کربن هستند که مواد را برای انرژی و بیوسنتز فراهم می‌کند. بسیاری ار باکتری ها کربن را به صورت قطرک‌های لیپیدی نیز ذخیره می‌کنند.

سیانوباکتری ها گروهی از باکتری های فتوسنتز کننده هستند که دارای دو تودهٔ اندوخته‌ای مشخص هستند. دانه‌های سیانوفیسین از پلی‌پپتیدهای بزرگ حاوی مقادیر نسبتاً مساوی از آمینواسیدهای آرژینین وآسپارتیک اسید تشکیل شده اند. این دانه ها اغلب به حد کافی بزرگ هستند که بتوان با میکروسکوپ نوری آن‌ها را دید و به عنوان ذخیرهٔ نیتروژن اضافی برای باکتری محسوب می‌شوند. کربوکسی زوم‌ها در بسیاری از سیانوباکتری ها و دیگر باکتری‌های تثبیت کننده $CO_2$ وجود دارند. این ساختارها چند وجهی بوده و قطری حدود $nm$ 100 دارند که حاوی آنزیم ریبولوز- 1، 5- بیش فسفات کربوکسیلاز با نام روبیسکو هستند. روبیسکو آنزیم کلیدی در فرآیند تثبیت $CO_2$ یا تبدیل $CO_2$ اتمسفری به قند است. این آنزیم در کربوکسی زوم ها آرایش نیمه بلوری به خود می‌گیرد که در واقع مخزنی برای آنزیم به حساب می‌آید. کربوکسی زوم‌ها ممکن است محلی برای تثبیت$CO_2$ نیز باشد.

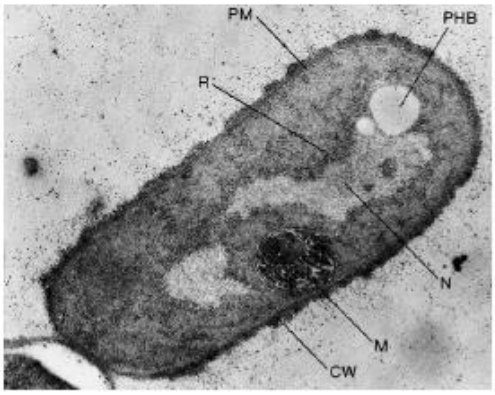



**Figure 3.11 The Structure of a Typical Gram-Positive Cell.** Electron micrograph of *Bacillus megaterium* (×30,500). Note the thick cell wall, CW; "mesosome," M; nucleoid, N; poly-β-hydroxybutyrate inclusion body, PHB; plasma membrane, PM; and ribosomes, R.

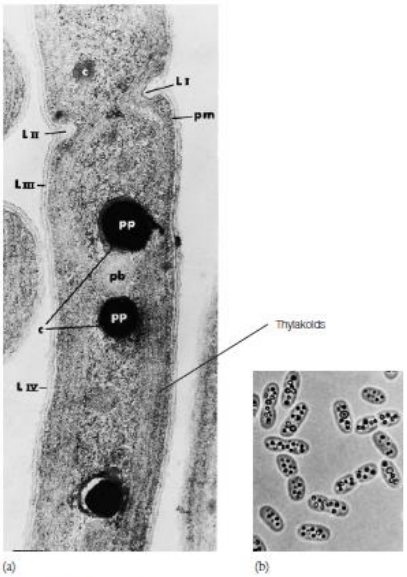



**Figure 3.13 Inclusion Bodies in Bacteria.** (a) Ultrastructure of the cyanobacterium *Anacystis nidulans*. The bacterium is dividing, and a septum is partially formed, LI and LII. Several structural features can be seen, including cell wall layers, LIII and LIV; the plasma membrane, pm; polyphosphate granules, pp; a polyhedral body, pb; and cyanophycin material, c. Thylakoids run along the length of the cell. Bar = 0.1 μm. (b) *Chromatium vinosum*, a purple sulfur bacterium, with intracellular sulfur granules, light field (×2,000).

توده های اندوخته ای باکتری‌ها. ( الف) تصویر الکترونی *Bacillus megaterium* . توده‌های ذخیره ای پلی – بتا – هیدروکسی *(PHB)*؛ دیواره سلولی *(CW)* ؛ توکلئوئید *(N)* ؛ غشای پلاسمایی *(PM)* ؛ مزوزوم*(M)* ؛ و ریبوزوم *(R)*. ( ب) ریز ساختار سیانوباکتری *Anacystis nidulans* این باکتری‌تقسیم می‌شود و دیوارهٔ عرضی ناقصی دیواره سلولی تشکیل می شود. (*LI* و*L II* ). چندین خصوصیات ساختاری از جمله لایه‌های دیواره سلولی ( *LIII* و *LIV* ) دانه‌های پلی فسفات *(pp)* ، جسم چند جهی *(pb)* مواد سیانوفیس *(c)* و غشا *(Pm)* قابل مشاهده هستند. تیلاکوئیدها در طول سلول کشیده شده اند. (ج) *Chromatium vinosun* باکتری گوگری ارغوانی با دانه های گوگردی داخل سلولی، تصویر با میکروسکوپ نوری زمینه روشن

یکی از جالب ترین توده های اندوخته‌ای الی واکوئل گازی است که امکان شناور شدن بعضی پروکاریوت های آبزی را فراهم می کند. واکوئل گازی در بسیاری از باکتری‌های فتوسنتز کننده در معدودی از پروکاریوت های آبزی دیگر مثـــل *Halobacterium* (یکی آرکی نمک دوست ) و *Thiothrix* (یک باکتری رشته ای ) وجود دارد. واکوئل گازی اجتماعی از تعداد زیادی ساختار کوچک، توخالی و سیلندری شکل به نام وزیکول‌های گازی هستند. کل دیواره‌های وزیکول گازی از یک پروتئین کوچک ساخته شده است. این زیر واحدهای پروتئینی برای تشکیل یک سیلندر سخت بسته گرد هم می‌آیند، سیلندر حاصل توخالی بوده و به آب نفوذ ناپذیر ولی به گازهای اتمسفری نفوذپذیر است. پروکاریوت های دارای واکوئل های گازی می‌توانند خود را در عمقی که شدت نور، غلظت اکسیژن و مواد مغذی مناسبی را تامین می‌کند، شناور سازند. آن‌ها با یک انقباض ساده وزیکولی پایین می‌روند و با ساختن وزیکول‌های جدید به سمت بالا حرکت می‌کنند.

در پروکاریوت ها دو نوع اصلی از توده‌های اندوخته‌ای معدنی دیده شده‌اند: دانه های پلی فسفات و دانه های گوگردی. بسیاری از باکتری‌ها فسفات را به شکل دانه های پلی فسفات یا دانه‌های ولوتین ذخیره می‌کنند. پلی فسفات پلیمری خطی از ارتوفسفات هایی است که با پیوندهای استری به هم چسبیده‌اند. بنابراین عملکرد دانه‌های ولوتین به عنوان مخزنی برای ذخیرهٔ فسفات است که جزء مهمی از ترکیبات سلولی مثل نوکلئیک‌اسیدها محسوب می‌شود. در بعضی سلول‌ها، پلی فسفات ها به عنوان ذخیرهٔ انرژی عمل می‌کنند و می‌توانند منبع انرژی برای واکنش ها باشند. دانه های ولوتین را گاهی دانه های متاکروماتیک نیز می‌نامند، زیرا آن ها اثرات متاکروماتیکی از خود نشان می دهند، یعنی زمانی که با رنگ های آبی مثل متیلن بلو یا تولوئیدن بلو رنگ می‌شوند، به رنگ قرمز یا نوع متفاوتی از آبی در می‌آیند. دانه‌های گوگردی در بعضی از پروکاریوت ها به عنوان محل ذخیره گوگرد استفاده می‌شوند. برای مثال باکترهای فتوسنتز کننده می توانند از سولفید هیدروژن به عنوان گیرنده الکترون در فتوسنتز استفاده کنند و گوگرد حاصل را در فضای پری پلاسمی یا گلبول های سیتوپلاسمی خاص جمع کنند.

توده های اندوخته‌ای معدنی را می‌توان با هدفی غیر از ذخیرهٔ مواد استفاده کرد. یک مثال جالب از این نوع، مگنتوزوم است که به وسیلهٔ بعضی باکتری ها برای جهت پذیری در میدان مغناطیسی زمین استفاده می‌شود. بسیاری از این توده های اندوخته ای حاوی شکل آهن ربایی هستند.

**نکته:**

1. اجسام انکلوزیونی که به طور طبیعی در سلول های پروکاریوتی وجود دارند به واسطه داشتن چند ویژگی، مشخص می شوند:

الف. آن‌ها از محصولات متابولیسم سلولی می باشند

ب. ترکیب شیمیایی محتوای آن‌ها متنوع می باشند.

ج. آن ها اغلب سهم قابل توجهیاز وزن خشک سلول را تشکیل می دهند.

د. محتوای آن ها اغلب محلول نمی باشد.

2. اجسام انکلوزیونی برای متابولیسم، ضروری نیستند، ولی در فازهای اختصاصی رشد یا تحت شرایط محیطی ویژه نوعی برتری محسوب می شوند.

3. *PHB* یک ترکیب شبه لیپیدی بوده و از واحدهای بتاهیدروکسی بوتیریک اسید تشکیل می گردد. مونومرهای این ترکیب توسط پیوندهای استری به هم متصل شده و تشکیل پلی مر طویل *PHB* را می دهند و با تجمع این پلیمرها، گرانول های*PHB* شـــــکل می گیرند. طول مونومر در سایر پلی مرهای ذخیره ای کربن می تواند به طور قابل توجهی( از 4 تا 18 کربن در برخی از میکروارگانیسم ها)

متغیر باشد. لذا در مجموعاز واژه کلی پلی بتا هیدروکسی آلکانوات(*PHA*) برای توصیف این پلی مرهای ذخیره ای کربن استفاده می گردد.

4. از پروکاریوت ها(چه باکتری ها و چه آرکی ها) *PHA* تولید می کنند ولی در یوکاریوت ها این پلی مرها دیده نمی شوند. اجسام انکلوزیونی حاوی اسیدهای چرب پلی هیدروکسی در تهیه پلاستیک قابل تجزیه زیستی مورد استفاده قرار می گیرند.

5. مگنتوزوم ها ذرات کریستالی درون سلولی هستند که از نوعی آهن معدنی موسوم به مگنتیت(*Fe2o3*) تشکیل شده اند. مگنتوزوم ها یک حالت دوقطبی مغناطیسی دائمی به سلول اعطا می کنند که به آن اجازه می دهد تا به میدان های مغناطیسی پاسخ دهد. مگنتوزوم ها توسط غشایی (که حاوی فسفولیپید، پروتئین ها و گلیکوپروتئین هامی باشد) احاطه می گردند. این غشا از نوع غشاهای واحد نیست بلکه، مشابه غشاهایی است که گرانول های *PHB* را احاطه می کند. پروتئین های غشا مگنتوزوم احتمالا در رسوب دادن *feIII*( که توسط عوامل کلیت کننده به شکل محلول به داخل سلول آورده می شود) به صورت *Fe2o3* در تکوین مگنتوزوم نقش دارد. به نظر می رسد مورفولوژی مگنتوزوم ها در هر گونه اختصاصی باشد و شکل آن ها از حالت مربعی تا مکعبی و در برخی باکتری ها میله ای، متغیر باشد. مگنتوزوم ها در ابتدا در انواعی از باکتری های آبزی توصیف شد(آکواسپریلیوم مگنوتکتیکوم) توصیف شدند. بسیاری از این باکتری ها

بهترین رشد را در غلظت های بسیار پائین اکسیژن دارند، و لذا به نظر می رسد که عملکرد اصلی مگنتوزوم راهنمایی سلول به طرف رسوباتی باشد که غلظت اکسیژن در آنجا پایین باشد.

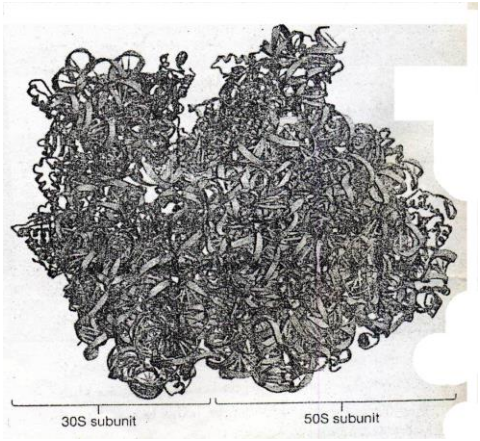
**نکته:**

1. *PHB* در برخی باکتری ها مثل باسیلوس و سودوموناس دیده می شود. این گرانول ها تاثیری بر فشار اسمزی داخل سلول ندارد و به وسیله رنگ های محلول در چربیمثل سودان سیاه و اسید اسمیک رنگ می شوند.
2. گلیکوژن بزرگترین توده اندوخته ای در انتروباکتریاسه می باشد.
3. به گرانول های ولوتین، دانه های بابز- ارنست و یا دانه های آلبرت نیز می گویند. این توده ها از مشخصات ویژه کورینه باکتریوم می باشد و در گونه های دیگر مثل یرسینیا پستیس(عامل طاعون) و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس(عامل سل) نیز دیده می شوند.
4. گرانول های گوگردی در برخی باکتری ها مثل تیوباسیلوس و بگیاتوا ذخیره شده و به عنوان منبع انرژی یا دهنده الکترون به کار می روند. زمانی که گوگرد در محیط کاهش می یابد گوگرد موجود در گرانول ها به سولفات اکسید می شود و گرانول ها کم کم ناپدید می شوند.
5. سلول های واجد وزیکول گازی به طرف سطح دریاچه بالا می روند و توسط بادها به داخل توده های متراکم دمیده می شوند. وزیکول های گازی در برخی ازباکتری های ارغوانی و سبز فتوتروف و در برخی از باکتری های غیر فتوتروف و حتی تعدادی از سیانوباکترها مانند هالوباکتریوم دیده می شود. اخیرا مطالعات نشان داده اند که برخی از باکتری های خاکزی مانند اکتینومایست ها و نیز گونه باسیلوس مگاتریوم دارای ژن رمز کننده وزیکول گازی می باشند. وزیکول گازی توانایی تحمل فشار هیدروستاتیک را ندارد.
6. از دیگر توده های اندوخته ای می توان کلروزوم و فیکوبیلیزوم را نام برد. سیانوباکترها و جلبک های قرمز دارای فیکوبیلی پروتئین ها هستند که رنگدانه های فرعی در فتوسنتز می باشند.

## ریبوزوم ها

همان طوری که پیش تر اشاره شد، ماتریکس سیتوپلاسمی اغلب مملو از ریبوزوم ها است؛ ریبوزوم ها همچنین ممکن است با اتصال سستی به غشا چسبیده باشند. ریبوزوم ها ساختارهای بسیار پیچیده‌ای از پروتئین سازی و ریبونوکلئیک اسید *(RNA)* هستند. آن ها محل ساخت پروتئین هستند؛ ریبوزوم های سیتوپلاسمی پروتئین هایی را می‌سازند که در نهایت درون سلول باقی می‌مانند، در حالی که ریبوزوم‌های متصل به غشا پروتئین ها را برای انتقال به بیرون از سلول می‌سازند. پلی پپتید تازه ساخته شده همزمان با ساخته شدن در ریبوزوم و یا مدت کوتاهی پس از تکمیل ساخت آن، به شکل نهایی خود تاخوردگی پیدا می‌کند. شکل نهایی هر پروتئین به وسیلهٔ توالی آمینواسیدهای آن تعیین می‌شود. پروتئین های خاصی به نام چاپرون‌های مولکولی و یا به عبارت ساده‌تر چاپرون ها به تاخوردگی پلی پپتیدها در شکل صحیح خود کمک می‌کنند.

ریبوزوم های پروکاریوتی نسبت به ریبوزوم های سیتوپلاسمی یا ریبوزوم های متصل به شبکهٔ اندو پلاسمی سلول‌های یوکـاریوتی کوچک تر هستند. ریبوزوم های پروکاریوتی که به ریبوزوم های $S$ 70 معروف هستند( در مقایسه با ریبوزوم $S$ 80 یوکاریوتی)، ابعادی حدود $nm$ 14* 15* 20 و وزن مولکولی 2/7 میلیون دارند و از دو زیر واحد *30S* و *50S*تشکیل شده‌اند. علاومت $S$ در $S$ 70 و در اعدد مشابه به آن نماینده واحد سودبرگ است. $S$ واحدی برای ضریب رسوب است که میزان سرعت رسوب در سانتریفیوژ را نشان می‌دهد؛ هر چه ذره ای هنگام سانتریفیوز با سرعت بیشتری حرکت کند، عدد سود برگ یا ضریب رسوب آن بیشتر خواهد بود. ضریب رسوب تابعی از وزن مولکولی، حجم و شکل ذره است. ذرات سنگین تر و فشرده تر طبیعتاً عدد سود برگ بزرگ تر یا سرعت رسوب بیشتر دارند.

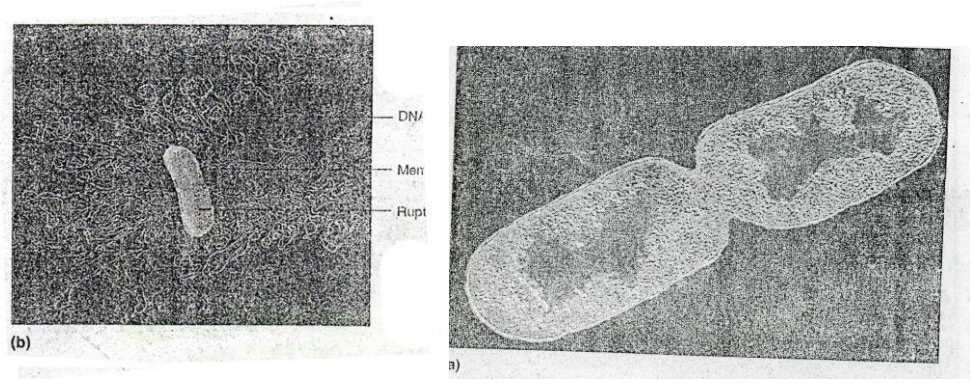


ریبوزوم پروکاریوتی. دو زیر واحد ریبوزوم باکتری‌های در شکل نشان داده شده است. زیر واحد $S$ 50 شامل $SrRNA$ 23( رنگ خاکستری) و $5SrRNA$ هستند، در حالی که $16SrRNA$( رنگ آبی) در زیر واحد $S$ 30 یافت می شود. یک مولکول $tRNA$ (رنگ طلایی ) در جایگاه $A$ نشان داده شده است.

## نوکلئوئید

برجسته ترین اختلاف بین پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها احتمالاً در نحوهٔ بسته بندی مواد ژنتیکی در آن ها است. سلول‌های یوکاریوتی دو یا چند کروموزوم دارند که درون اندامکی محصور در غشا به نام هسته قرار گرفته‌اند. در مقابل، پروکاریوت ها فاقد هستهٔ محصور در غشا هستند. کروموزوم پروکاریوتی در ناحیه‌ای با شکل نامنظم به نام نوکلئوئید قرار دارد( از اسامی دیگر مورد استفاده: جسم هسته‌ای، جسم کرومایتن و ناحیهٔ هسته‌ای است ).

پرو کاریوت‌ها معمولاً حاوی یک دئوکسی ریبونوکلئیک اسید $(DNA)$ دو رشته‌ای حلقوی هستند، اما بعضی از آن ها دارای کروموزوم خطی و بعضی مثل $Vibrio\ cholera$ و $Borrelia\ burgdorferi$ ( به ترتیب عوامل ایجاد کنندهٔ وبا و بیماری لایم). بیش از یک کروموزوم دارند.




نوکلئوئیدها و کروموزوم‌های پروکاریوتی. کروموزوم‌های پروکاریوتی در ناحیه‌ای از سیتوپلاسم به نام نوکلئوئید قرار گرفته‌اند. ( الف) تصویر میکروسکوپ الکترونی گذاره با رنگ آمیزی از برش نازکی از سلول $E.coli$ در حال تقسیم،مناطق قرمز نشان دهندهٔ نوکلئوئیدهای موجود در سلول های دختری است ( ب) کروموزوم که از سلول$E.coli$ با لیز ملایم آزاد شده است. توجه داشته باشید $DNA$ باید به چه سختی درون سلول بسته بندی شود.

مطالعات با میکروسکوپ نوری و الکترونی در فهم ساختار عملکرد نوکلئوئید، به ویژه در طی تقسیم و رشد فعال سلول اهمیت به‌سزایی داشته‌اند. در تصویر میکروسکوپ الکترونی نوکلئوئید دارای ظاهری رشته‌ای است که احتمالاً این رشته ها از$DNA$ هستند. در سلول‌های دارای رشد فعال، نوکلئوئید دارای زوائدی است که به درون ماتریکس سیتوپلاسمی کشیده شده‌اند. این زوائد احتمالاً دارای $DNA$ هستند که برای تولید $mRNA$ به طور فعال رونویسی می‌شوند. مطالعات دیگر نشان داده اند که هنگام دو برابر شدن مواد ژنتیکی و قبل از تقسیم شدن سلول می توان در یک سلول بیش از یک نوکلئوئید مشاهد کرد.

نوکلئوئیدها را به شکل خالص می‌توان جداسازی کرد. آنالیز شیمیایی نوکلئوئیدهای خالص شده نشان می‌دهد که آن ها از $DNA$، $RNA$ و پروتئین با نسبت‌های وزنی 60٪ ، 30٪ و 10٪ تشکیل شده‌اند. در$Escherichia\ coli$ حلقهٔ بسته $DNA$ طولی حدود$m$ µ 1400 دارد که بلندی آن 230 تا 700 برابر طول خود باکتری است. پر واضح است که این طول از$DNA$ برای قرار گیری درون نوکلئوئید باید بهطور کارآمدی بسته بندی شود. از این‌رو $DNA$ احتمالاً به کمک $RNA$ و انواعی از پروتئین های نوکلئوئیدی به شدت حلقوی و مارپیچی می‌شود. پروتئین های نوکلئوئیدی شامل پروتئین های متراکم کننده هستند که در طول تکامل در باکترها و آرکی‌ها حفظ شده‌اند. باکتری‌ها بر خلاف یوکاریوت ها و آرکی ها از پروتئین های هیستونی برای بسته بندی $DNA$ خود استفاده نمی کنند.

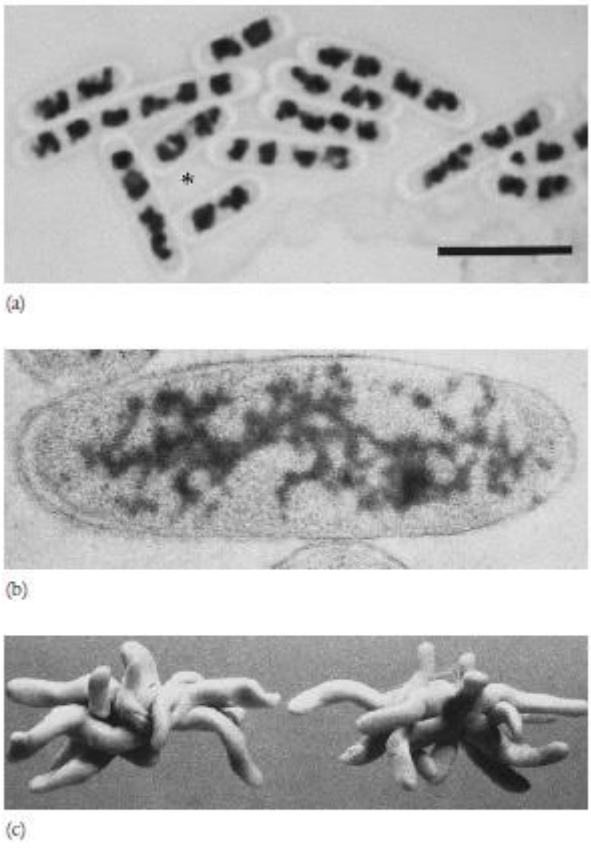


**Figure 3.14 The Bacterial Nucleoid.** (a) Nucleoids in growing *Bacillus* cells stained using HCl-Giemsa stain and viewed with a light microscope (bar = 5 μm). (b) A section of actively growing *E. coli* immunostained specifically for DNA and examined in the transmission electron microscope. Coupled transcription and translation occur in parts of the nucleoid that extend out into the cytoplasm. (c) A model of two nucleoids in an actively growing *E. coli* cell. Note that a metabolically active nucleoid is not compact and spherical but has projections that extend into the cytoplasmic matrix.

چند استثنا برای سازماندهی ژنوم باکتریایی وجود دارد. نواحی غشادار حاوی *DNA* در دو جنس از شاخهٔ غیر معمول باکتریایی *Planctomycetes* موجود است. *Pirellula* دارای غشای تکی است که ناحیه‌ای به نام پیرلولوزوم حاوی نوکلئوئید رشته‌ای و ذرات ریبوزوم مانند را احاطه می‌کند. در *Gemmata obsuriglobus* جسم هسته‌ای با دو غشا احاطه شده است. برای تعیین عملکردهای این غشاها و نحوهٔ گسترش این پدیده کارهای بیشتری مورد نیاز است.

**پلاسمیدها**

بسیاری از پروکاریوت ها( و بعضی مخمرها و دیگر قارچ ها ) علاوه بر مواد ژنتیکی موجود در نوکلئوئیدها حاول مولکول های *DNA* خارج از کروموزومی به نام پلاسمیدها است. در واقع، اغلب ژنوم های باکتریایی یا آرکی ها که تاکنون توالی یابی شده‌اند، دارای پلاسمید هستند. در بعضی موارد، درون یک گونه پلاسمیدهای مختلف بسیاری شناسایی شده اند. برای مثال*B. Burgdorferi* دارای 12 پلاسمید خطی و 9 پلاسمید حلقوی است. پلاسمیدها نقش‌های بسیار مهمی در زندگی جاندران حامل خود ایفا می‌کنند. همچنین برای میکروب‌شناسان و ژنتیک دانان مولکولی نقش پلاسمیدها در ساخت و انتقال ترکیبات ژنتیکی جدید و کلون کردن ژن ها ثابت شده است. در این بخش انواع مختلفی از پلاسمیدهای پروکاریوتی مورد بحث قرار می‌گیرند.

پلاسمیدها مولکول‌های *DNA* دو رشته‌ای کوچکی هستند که می توانند به طور مستقل از کروموزوم وجود داشته باشند. وجود هر دو نوع حلقوی و خطی پلاسمیدها تایید شده است، ولی شناخته شده‌ترین پلاسمیدها انواع حلقوی هستند. پلاسمیدهای خطی در انتهاهای خود ساختارها و توالی های ویژه‌ای دارند که از تجزیه شدن آن ها جلوگیری کرده و امکان همانندسازی را برای آن ها فراهم می‌کنند. پلاسمیدها ژن های نسبتاً محدودی دارند که معمولاً این تعداد کمتر از 30 ژن است، اطلاعات ژنتیکی پلاسمیدها برای میزبان ضروری

نیست و سلول فاقد این پلاسمیدها معمولاً دارا عملکرد طبیعی هستند. با وجود این، بسیاری از پلاسمیدها ژن هایی را حمل می‌کنند که به میزبان خود در محیط‌های خاص مزیت های انتخاب می‌بخشند.

پلاسمیدها می توانند به طور مستقل همانندسازی کنند. پلاسمیدهای تک نسخه‌ای در هر سلول میزبان تنها یک نسخه دارند. پلاسمیدهای چند نسخه‌ای در هر سلول ممکن است به تعداد 40 نسخه یا بیشتر وجود داشته باشند. بعضی پلاسمیدها قادر به ادغام در کروموزوم هستند و لذا به همراه کروموزوم همانندسازی می‌شوند. چنین پلاسمیدهایی را اپی‌زوم می نامند. پلاسمیدها در طی تقسیم سلولی بدون تغییر به ارث می رسند ولی تسهیم آن ها بین سلولی‌های دختری همیشه یکسان نیست و گاهی از دست می روند، به از دست دادن پلاسمید کیورینگ می‌گویند. کیورینگ به طور خود به خودی و یا با القای تیمارهایی اتفاق می‌افتد که این تیمارها بدون اثر ممانعتی روی همانند سازی سلول میزبان از همانند سازی پلاسمیدها جلوگیری می‌کنند. بعضی از تیمارهای رایج مورد استفاده در کیورینگ عبارت‌اند از: مواد جهش زای اکریدینی، *uv* و تشعشعات یونیزان، کمبود تیمدین، آنتی بیوتیک‌ها و رشد در دماهای بالاتر از دمای بهینه.

پلاسمیدها را می‌توان بر اساس نحوهٔ حضور، پخش و عملکرد آن ها طبقه بندی کرد. پلاسمیدهای هم یوغی پلاسمیدهای جالب هستند. این پلاسمیدها ژن های لازم برای ساخت ساختارهای مو مانندی به نام پیلی را دارند و در طی هم یوغی می‌توانند نسخه‌هایی از خود را به باکتری‌های دیگر منتقل کنند. شاید بیشترین مطالعه در پلاسمیدهای هم یوغی مربوط به فاکتور $F$ ( فاکتور باروری یا پلاسمید$F$ ) در *E. coli* باشد که اولین فاکتور هم یوغی شناخته شده است. فاکتور$F$ حامل ژن های سازندهٔ پیلی های جنسی است که سلول$F^+$ ( سلول دارای پلاسمید $F$ ) را به سلول $F^-$ ( سلول فاقد پلاسمید $F$ ) متصل می‌کند. محصولات دیگر ژن های این پلاسمید در انتقال *DNA* از سلول$F^+$ به سلول $F^-$ کمک می‌کنند. همچنین فاکتور $F$ یک اپی زوم محسوب می‌شود.

فاکتورهای مقاومت(فاکتورهای $R$، پلاسمیدهای $R$) از دیگر گروه مهم پلاسمیدی هستند. فاکتورهای $R$ معمولاً دارای ژن های رمزکنندهٔ آنزیم‌ها هستند که می توانند آنتی‌بیوتیک ها را تخریب یا تغییر دهند. بعضی پلاسمیدهای $R$ تنها یک ژن مقاوم دارند، در حالی که پلاسمیدهای دیگر حدود 8 ژن دارند. از آن جایی که اغلب ژن های مقاومت درون عناصر ژنتیکی متحرک به نام ترانسپوزون‌ها قرار گرفته‌اند لذا ممکن است پلاسمیدهای چند مقاومتی به وجود آیند. فاکتورهای $R$ معمولاً درون کروموزوم میزبان ادغام نمی‌شوند. فاکتورهای $R$ به علت داشتن سرعت بالای انتقال بین یک جمعیت سلولی نقش مهمی در مراکز بهداشت عمومی بر عهده دارند. علل متعددی برای این انتقال ها قابل تصور است. یکی از این علت ها می تواند این باشد که بسیاری از فاکتورهای$R$ پلاسمیدهای هم یوغی هستند. با وجود این، فاکتور$R$ غیر هم یوغ نیز، اگر در سلولی باشد که دارای پلاسمید هم یوغی است، ممکن است به کمک آن به سلول‌های دیگر منتقل شود. بعضی وقت ها در چنین سلولی هنگام انتقال پلاسمید هم یوغی، فاکتور$R$ نیز می‌تواند منتقل شود(یعنی قابل انتقال می‌شود). مشکل زمان جدی تر می‌شود که بعضی فاکتورهای $R$ می‌توانند به سهولت بین گونه‌ها نیز منتقل شوند. با مصرف آنتی بیوتیک در انسان و جانوران، رشد باکتری‌های دارای فاکتور $R$ تقویت می‌شود. از این‌رو فاکتورهای $R$ می‌توانند به جنسهای بیماری زا تر مثل *Salmonella* یا *Shigella* منتقل شوند و مشکلات جدی تری را برای سلامت عمومی به همراه داشته باشند.

پلاسمیدهای مهم دیگری نیز شناسایی شده‌اند. این پلاسمیدها شامل پلاسمیدیهای رمز کنندهٔ باکتریوسین، پلاسمیدهای بیماری‌زایی( ویرولانس) و پلاسمیدهای متابولیکی هستند. پلاسمیدهای رمز کنندهٔ باکتریوسین می‌توانند به باکتری های حامل خود یک برتری رقابتی در دنیای میکروبی ببخشند. باکتریوسین ها پروتئین های باکتریایی هستند که باکتری‌های دیگر را تخریب می‌کنند. معمولاً اثر تخریبی آن ها تنها روی سویه‌های با قرابت بالا است، بعضی باکتریوسین ها با تشکیل کانال‌هایی در غشای پلاسمایی، سلول ها را می‌کشند. در واقع تشکیل کانال در نفوذ پذیری انتخاب غشا که برای بقای سلول حیاتی است، اختلال ایجاد می‌کند. باکتریوسین ها همچنین ممکن است *DNA* و *RNA* را تجزیه کنند و یا به پپتیدوگلیکان حمله کرده و دیوارهٔ سلولی را تضعیف کنند. پلاسمیدهای *Col* حامل ژن هایی برای سنتز باکتریوسین های معروف به کلی‌سین ها هستند که علیه *E.coli* عمل می‌کنند. پلاسمیدهای دیگر ژن های باکتریوسین های موثر بر گونه های دیگر را حمل می‌کنند. مثلاً کلوآسین ها گونه های *Entrobocter* را از بین می‌برند. بعضی پلاسمیدها *Col* پلاسمیدهای هم یوغی هستند و ژن های مقاومت را حمل می‌کنند. باید توجه داشت که ژن های همهٔ باکتریوسین ها روی پلاسمید قرار ندارند. مثلاً، ژن های باکتریوسین های *Pseudomona aeruginosa* که پروتئین هایی به نام پیوسین را رمز می کنند، روی کروموزوم قرار دارند. باکتریوسین های تولید شده به وسیله فلور طبیعی انسان ( و دیگر جانوران) جزئی از دفاع ما در مقابل پاتوژن های مهاجم محسوب می شوند. پلاسمیدهای ویرولانس عواملی را رمز می‌کنند که سبب تقویت قدرت بیماری زایی باکتری حامل پلاسمید می‌شود. مثلاً سویهٔ مولد انتروتوکسین*E.coli* به علت داشتن پلاسمید رمز کنندهٔ انتروتوکسین سبب ایجاد اسهال مسافرتی می‌شود. پلاسمیدهای متابولیکی ژن های آنزیم‌های تجزیه کنندهٔ مواد مثل ترکیبات اروماتیک( تولوئن )، آفت کش ها( 2-4دی کلروفنوکسی استیک اسید ) و قندها( لاکتوز) را حمل می‌کنند. این پلاسمیدها حتی ژن های مورد نیاز برای بعضی سویه‌های *Rhizobium* در القای گره زایی در نخود و تثبیت ازت را حمل می کنند.

## دیوارۀ سلولی باکتری

دیوارۀ سلولی معمولاً به صورت لایۀ سختی است که درست در بیرون غشای پلاسمایی قرار گرفته است. این دیواره از چند نظر یکی از مهمترین ساختارهای پروکاریوتی محسوب می‌شود: دیواره در تعیین شکل سلول کمک می کند؛ می تواند سلول را از مواد سمی حفاظت کند؛ و در انواع باکترهای بیماری زا می‌تواند در بیماری زایی نقش داشته باشد. اهمیت دیوارۀ سلولی از این حقیقت نیز روشن می‌شود که تعداد نسبتاً کمی از پروکاریوت های فاقد دیوارۀ سلولی وجود دارند. البته این پروکاریوت ها دارای ویژگی‌های دیگری هستند که نقش دیوارۀ سلولی را در آن ها ایفا می کنند. همچنین دیواره سلولی پروکاریوت ها محل اثر تعدادی از آنتی بیوتیک ها است. بنابراین، آگاهی از ساختار دیوارۀ سلولی از اهمیت بالایی برخوردار است.

دیوارۀ سلولی باکتری‌ها و آرکی ها کاملاً از هم قابل تشخیص هستند و مثال دیگری از ویژگی‌های تشخیصی مهم این جانداران محسوب می‌شوند. در این بخش، بحث را روی دیوارۀ سلولی باکتری متمرکز می کنیم. ابتدا نگاهی اجمالی به ساختار دیوارۀ سلولی باکتری ارائه می‌شود، سپس بحث‌هایی با جزئیات دقیق تر در زمینه خاص ساختار و عملکرد دیوارۀ سلولی مطرح می‌شود.

**نکته**

**مکانیسم رنگ آمیزی گرم**

اگر چه تفاسیر بسیاری در مورد نتایج به دست آمده از واکنش رنگ آمیزی گرم ارائه شده است، به احتمال قوی اختلاف بین باکترهای گرم منفی و گرم مثبت به ماهیت فیزیکی دیوارۀ سلولی آن ها مربوط می‌باشد. با حذف دیوارۀ سلولی باکترهای گرم مثبت، آن‌ها گرم منفی خواهند شد. به علاوه، باکتری‌هایی که از نظر ژنتیکی فاقد دیوارۀ سلولی هستند، مثل مایکوپلاسماها، نیز گرم منفی رنگ می‌گیرند. در رنگ آمیزی، خود پپتیدوگلیکان رنگ نمی گیرد و در عوض به نظر می‌رسد که پپتیدوگلیکان به عنوان سدی در مقابل نفوذ پذیری دیواره از خروج کریستال ویوله جلوگیری می‌کند. در طی فرآیند رنگ آمیزی ابتداد باکتری‌ها را با کریستال ویوله رنگ می‌کنند و سپس آن را با ید تیمار می نمایند تا پایداری رنگ را تشدید کند. هنگامی که باکتری گرم مثبت با اتانول تیمار می‌شود، احتمالاً اتانول منافذ پپتیدوگلیکان ضخیم را چروک می کند بنابراین کمپلکس ید رنگ در طی مرحلۀ کوتاه رنگ بری حفظ می‌شود و باکتری به رنگ ارغوانی باقی می‌ماند. در مقابل، به یاد دارید که پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم منفی بسیار نازک و با اتصالات عرضی کم است و دیوارۀ آن ها منافذ بزرگ‌تری دارد. تیمار الکلی نیز ممکن است مقادیر قابل توجهی از لیپیدهای غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی را خارج کند و منافذ آن را بزرگ تر کند. باتوجه به این دلایل، الکل راحت‌تر می‌تواند کمپلکس ید – کریستال ویولۀ ارغوانی را از باکتری‌های گرم منفی حذف کند. بنابراین باکتری های گرم منفی در مرحلۀ پس از رنگ بری به سهولت رنگ قرمز یا صورتی ناشی از رنگ دوم سافرانین را به خود می‌گیرند.

## نگاهی اجمالی به ساختار دیوارۀ سلولی باکتری‌ها

پس از ابداع روش رنگ آمیزی گرم توسط کریستین گرم در سال 1884، در همان ابتدا معلوم شد که اکثر باکتری‌ها را می‌توان بر اساس پاسخ به روش رنگ آمیزی گرم به دو گروه عمده تقسیم کرد . در این روش، باکتری های گرم مثبت به رنگ ارغوانی در می‌آیند در حالی که باکتری‌های گرم منفی به رنگ صورتی یا قرمز در می ایند. اختلاف ساختاری واقعی بین این دو گروه تا اختراع میکروسکوپ الکترونی گذاره روشن نشد. دیوارۀ سلولی گرم مثبت ها از یک لایۀ همگن ضخیم به عرض 20 تا 80 $nm$ و از جنس پپتید و گلیکان ( مورین ) در بیرون غشای پلاسمایی تشکیل شده است. برعکس، دیوارۀ سلولی باکتری های گرم منفی کاملاً پیچیده است. در این دیـــــواره، لایۀ پپتیدوگلی‌کان ضخامتی حدود 2 تا 7 $nm$ دارد که با غشای خارجی به ضخامت 7 تا 8 $nm$ پوشیده شده است .دیوارۀ سلولی باکتری های گرم مثبت به علت داشتن لایۀ پپتیدوگلیکان ضخیم تر، از باکتری های گرم منفی به فشار اسمزی مقاوم‌تر است. میکروب شناسان اغلب به کل ساختارهایی که غشای پلاسمایی به بالا قرار دارند، پوشش سلولی می گویند. بنابراین پوشش سلولی غشای پلاسمایی، دیوارۀ سلولی و ساختارهایی شبیه کپسول را ( در صورت وجود آن ) در برمی‌گیرد.

یکی از ویژگی های مهم پوشش سلولی فضایی است که در تصاویر الکترونی غالباً بین غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی و گاهی بین غشای پلاسمایی و دیوارۀ باکتری های گرم مثبت دیده می‌شود. این فضا فضای پری پلاسمی نامیده می‌شود. ماهیت فضای پری پلاسمی و پری پلاسم در باکترهای گرم مثبت و منفی تفاوت دارد. جزئیات بیشتری از این اختلافات در زیر اشاره می‌شود.

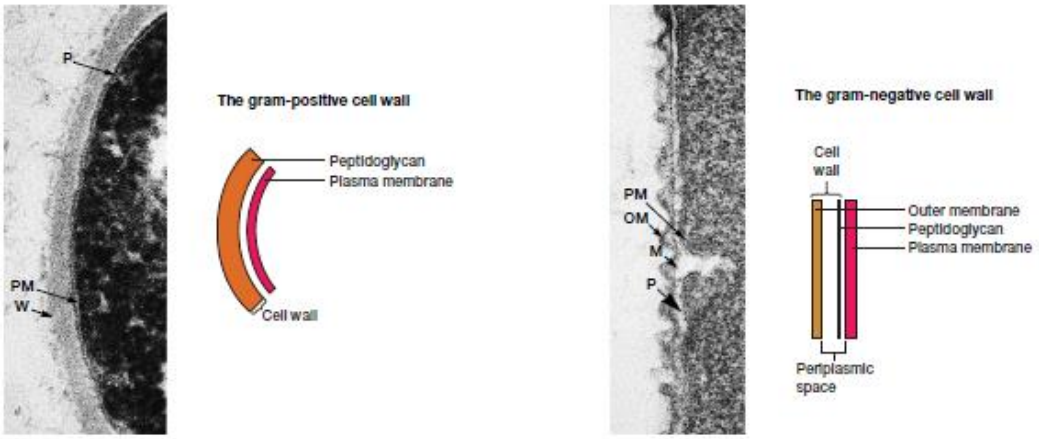



**Figure 3.15 Gram-Positive and Gram-Negative Cell Walls.** The gram-positive envelope is from *Bacillus licheniformis* (left), and the gram-negative micrograph is of *Aquaspirillum serpens* (right). M; peptidoglycan or murein layer; OM, outer membrane; PM, plasma membrane; P, periplasmic space; W, gram-positive peptidoglycan wall.

شکل3-17- دیوارۀ سلولی گرم مثبت‌ها و گرم منفی‌های. تصویر میکروسکوپی از پوشش باکتری گرم مثبت *Bacillus licheniformis* ( چپ) . و باکتری گـرم منفی در *Aquaspirillum* ( راست ) . *M* لایۀ پتیدو گلیکان یا مورین؛ *OM*، غشای خارجی ؛ *PM*، غشای پلاسمایی؛ *P* ، فضای پـری پلاسـمی ؛ *W*، دیـوارۀ پپتیدو گلیکانی گرم مثبت.

## ساختار پپتیدوگلی‌کان

پپتیدو گلیکان یا مورین پلیمر شبکه‌ای‌عظیمی است که از تعداد زیادی زیر واحد یکسان تشکیل شده اسـت. ایـن پلیمـر حـاوی دو مشـتق قندی،*N* – استیل مورامیک اسید ( لاکتیل اتری از *N* – استیل گلوکز آمین ) و انواع مختلفی از آمینو اسیدها است. سـه تـا از ایـن آمینـو اسیدها در پروتئین‌ها یافت نمی‌شوند: *D*- گلوتامیک اسید، *D*- آلانین و مزودوی آمینو پایملیک اسید. وجود *D*- آمینـو اسـیدها دیـواره را مقابل تجزیه شدن با اغلب پروتنازها که فقط ایزومرهای *L* آمینو اسیدها را شناسایی می کنند، محافظت می نمایـد. اسـکلت اصـلی پلیمـر پپتیدوگلیکان از قرار گیری یک در میان واحدهای *N*- استیل گلوکزامین و*N*- استیل مورامیک اسید تشکیل شده است. زنجیرۀ پپتیـدی بـا چهار آمینواسید متناوب *D* و *L* به گروه کربوکسیل *N*– استیل مورامیـک اسـید متصـل اسـت . بسـیاری از باکتری‌هـا بـه جـای مـزودی آمینوپایملیک اسید از دی آمینو اسید دیگری که معمولاً لیزین است، استفاده می‌کنند.

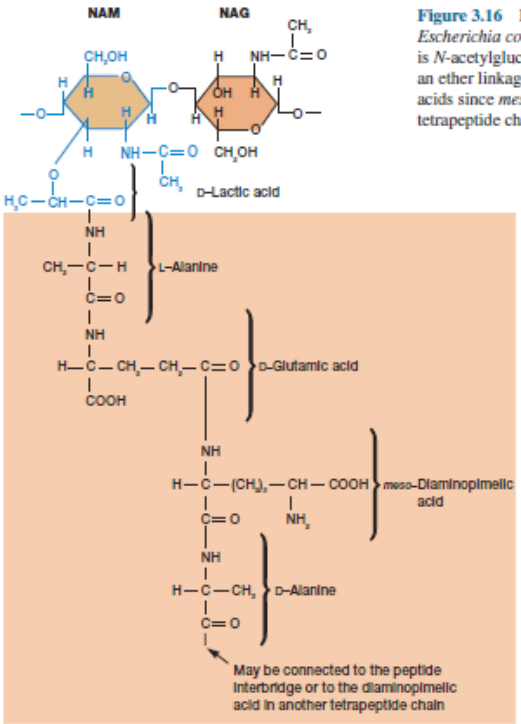



**Figure 3.16 Peptidoglycan Subunit Composition.** The peptidoglycan subunit of *Escherichia coli*, most other gram-negative bacteria, and many gram-positive bacteria. NAG is *N*-acetylglucosamine. NAM is *N*-acetylmuramic acid (NAG with lactic acid attached by an ether linkage). The tetrapeptide side chain is composed of alternating D- and L-amino acids since *meso*-diaminopimelic acid is connected through its L-carbon. NAM and the tetrapeptide chain attached to it are shown in different shades of color for clarity.

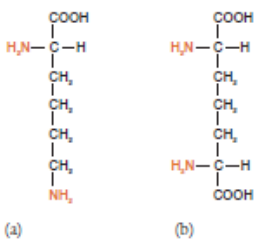



**Figure 3.17 Diaminoacids Present in Peptidoglycan.** (**a**) L-Lysine. (**b**) *meso*-Diaminopimelic acid.

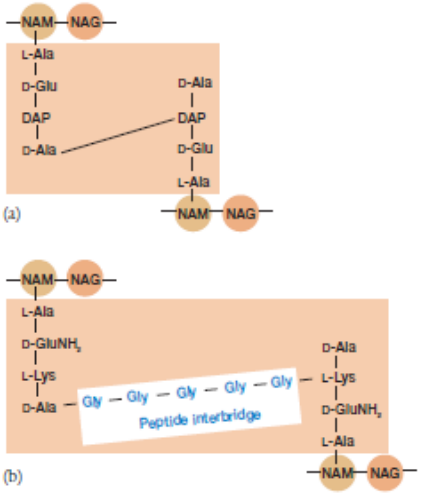



**Figure 3.18 Peptidoglycan Cross-Links.** (a) *E. coli* peptidoglycan with direct cross-linking, typical of many gram-negative bacteria. (b) *Staphylococcus aureus* peptidoglycan. *S. aureus* is a gram-positive bacterium. NAM is *N*-acetylmuramic acid. NAG is *N*-acetylglucosamine. Gly is glycine. Although the polysaccharide chains are drawn opposite each other for the sake of clarity, two chains lying side-by-side may be linked together (see figure 3.19).

برای ساختن یک پلیمر شبکه‌ای محکم، زنجیره های به دست آمده از زیر واحدهای پپتیدوگلیکان باید با اتصالات عرضی بین پپتیدها بـه هـم متصـل شوند. اغلب گروه کربوکسیل $D$-آلانین انتهایی مستقیماً به گروه آمینوی دی آمینو پایملیک اسید متصل می‌شود، اما ممکن است این تترا پپتیدها با پل های پپتیدی به هم متصل شوند. پپتیدو گلیکان دیوارهٔ سلولی گرم منفی اغلب فاقد پل های پپتیدی است. این اتصالات عرضی منجر به ایجـاد کیسـهٔ پپتیدوگلیکانی عظیمی می‌شود که عملاً شبکه متراکمی با اتصالات عرضی است. این کیسه ها که از باکتری‌های گرم مثبت جداسازی شده اند بـه حـد کافی محکم هستند و تمامیت و شکل خود را هنوز حفظ کرده‌اند، هر چند که تخلخل نسبی، انعطاف پذیری و تا اندازه‌ای کشسانی را دارا هستند.

**نکته**

1. استحکام دیواره سلولی باکتری ها مربوط به لایه موکوپپتید، پپتیدوگلی کان یا مورین می باشد که در گرم منفی ها تا دو و در گرم مثبت ها تا چهل لایه می باشد.
2. دیواره بر خلاف غشا سیتئپلاسمی فاقد نفوذپذیری انتخابی است.
3. برخی گرم مثبت ها مثل کورینه باکتریوم، کورینه باکتریوم، نوکاردیا و رودوکوکوس دارای دی آمینو پایملیک اسید هستند.
4. پل پنتا گلایسین در استافیلوکوک نقطه اثر آنزیم لیزواستافین( از انواع اتولایزین ها است.
5. اسید آمینه $D$. آمینوپایملیک اسید در گرم منفی ها محل اتصال پپتیدوگلی کان به لیپوپروتئین براون موجود در غشا خارجی می باشد.
6. $D$. آمینوپایملیک اسید پیش ساز اسیدآمینه لایزین در بیوسنتز باکتریال است و بنزوات پیش ساز $DAP$ است.
7. گاهی اوقات در برخی از باکتری ها هیدروکسیل کربن شماره 6 از $N$. استیل مورامیک اسید با اتصال یک پل اکسیژنی با گروه استیل جا به جا شده، اصطلاحا پپتیدوگلی کان $O$- استیله را ایجاد می نماید.
8. پپتیدوگلی کان $O$- استیله در باکتری های زیر دیده می شود:

گرم مثبت: استافیلوکوک اورئوس، انتروکوک فیکالیس؛ گرم منفی: نایسریا گونوره، بوردتلا پرتوسـیس، پروتئـوس ولگـاریس، پروتئـوس میـرابیلیس. در حقیقت پپتیدوگلی کان $O$- استیله هم در باکتری های مثبت ها وجود دارد و هم در گرم منفی ها وجود دارد.

9. حداقل چهار نوع پل تقاطعی وجود دارد که در همه آن ها $D$-آلانین انتهایی از یک زنجیره تتراپپتیدی شرکت دارد. نوع اول کـه در بیشـتر بـاکتری های گرم منفی مانند $E.coli$ و بسیاری از باسیلوس ها یافت می شود شامل پیوند مستقیم $D$-آلانین انتهایی یک زنجیره با گروه آمینـوی $DAP$ در زنجیره تتراپپتیدی دیگر می باشد. نوع دوم از پل های تقاطعی شامل یک پپتید کوتاه از 5-1 اسیدآمینه است که از یـک طـرف بـه $D$ -آلانـین یـک زنجیره و از طرف دیگر به گروه آمینوی اسیدآمینه سوم(مثلا $DAP$) در زنجیره دیگر امتداد می یابد.اسید آمینه های موجود در این نوع پل تقـاطعی در باکتری های مختلف، متفاوت است. پل تقاطعی پنتاگلایسین در گونه استافیلوکوک اورئوس بهترین نمونه مطالعه شده است. نوع سـوم از پـل تقـاطعی متشکل از یک یا چند پپتید متوالی است که ترادف هر کدام از آنها با ترادف واحدهای پپتیدی زنجیره های عرضی متصل به$N$. استیل مورامیـک اسـید یکسان است. این نوع در گونه گرم مثبت میکروکوکوس لوتئوس یافت می شود. در نوع چهارم، پل تقاطعی بین گروه های کربوکسیل $D$-آلانین ( یـا $D$.گلوتامیک)یک زنجیره و یک باقیمانده دی آمینواسید در زنجیره دوم به طور مستقیم یـا توسـط یـک پـل پپتیـدکوتاه حـاوی یـک دی آمینواسید امتداد می یابد. این حالت در گونه بوتیری باکتریوم رتگری گزارش شده است.

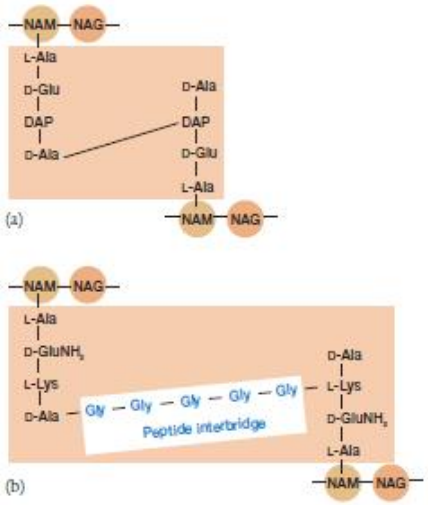



**Figure 3.18 Peptidoglycan Cross-Links.** (**a**) *E. coli* peptidoglycan with direct cross-linking, typical of many gram-negative bacteria. (**b**) *Staphylococcus aureus* peptidoglycan. *S. aureus* is a gram-positive bacterium. NAM is *N*-acetylmuramic acid. NAG is *N*-acetylglucosamine. Gly is glycine. Although the polysaccharide chains are drawn opposite each other for the sake of clarity, two chains lying side-by-side may be linked together (see figure 3.19).

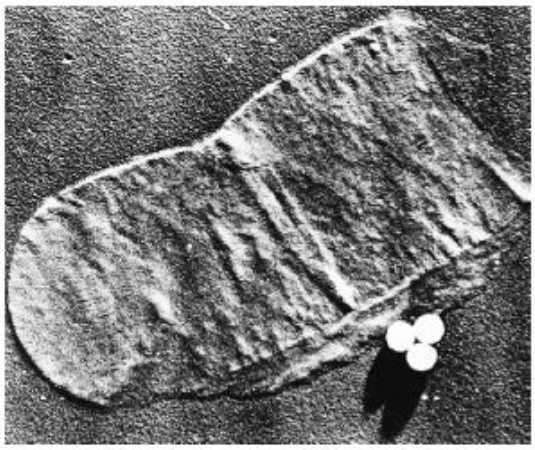


**Figure 3.20 Isolated Gram-Positive Cell Wall.** The peptidoglycan wall from *Bacillus megaterium*, a gram-positive bacterium. The latex spheres have a diameter of 0.25 μm.

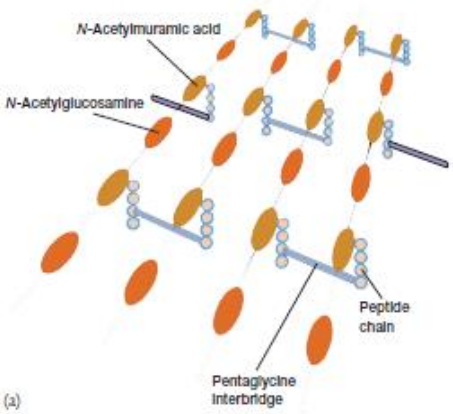


**Figure 3.19 Peptidoglycan Structure.** A peptidoglycan segment showing the polysaccharide chains, tetrapeptide side chains, and peptide interbridges. (**a**) A schematic diagram. (**b**) A space-filling model of gram-negative murein with four repeating peptidoglycan subunits in the plane of the paper. Two chains are arranged vertical to this direction.

## پوشش باکتری گرم مثبت

### دیوارهٔ سلولی باکترهای گرم مثبت

باکتری های گرم مثبت به طور طبیعی دارای دیوارهٔ سلولی ضخیمی هستند که عمدتاً از پپتیدو گلیکان تشکیل شده است. پپتیدو گلیکان در باکتری های گرم مثبت اغلب دارای پل‌های عرضی است. به علاوه، دیوارهٔ سلولی باکترهای گرم مثبت معمولاً دارای مقادیر زیادی تیکوئیک اسید است. تیکوئیک اسیدها پلیمرهایی از گلیسرول یا ریبیتول هستند که با گروه های فسفات به هم متصل شده‌اند. آمینو اسیدهایی مثل $D-$ آلانین یا قندهایی شبیه گلوکز به گروه‌های گلیسرول و ریبیتول متصل شده‌اند . تیکوئیک اسیدها با پیوند کووالان به پپتیدو گلیکان و یا لیپیدهای غشای پلاسمایی متصل می‌شوند. به انواع متصل به غشا، لیپوتیکوئیک اسید می‌گویند. تیکوئیک اسیدها ظاهراً از سطح پپتیدوگلیکان به بیرون کشیده شده‌اند و به علت داشتن بار منفی، به ایجاد بار منفی در دیوارهٔ باکتری های گرم مثبت کمک می کنند. عملکرد تیکوئیک اسیدها هنوز روشن نیست اما ممکن است در حفظ ساختار دیواره اهمیت داشته باشند. تیکوئیک اسیدها در باکتری‌های گرم منفی وجو ندارند.

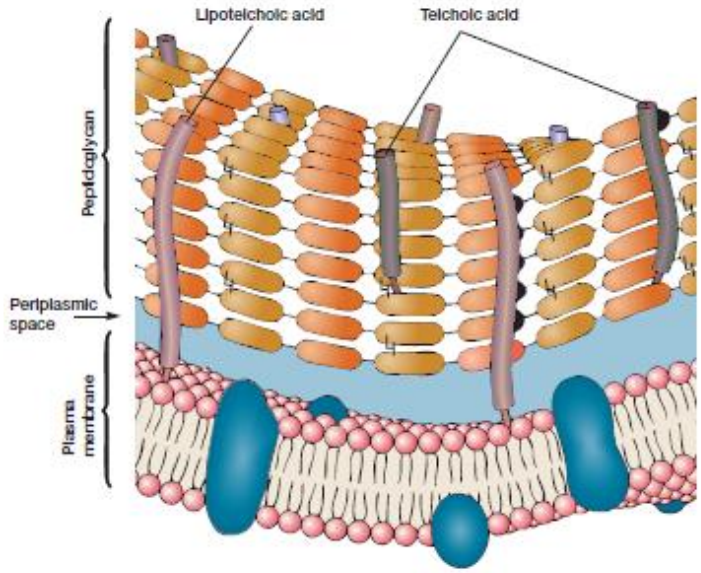



Figure 3.21 The Gram-Positive Envelope.

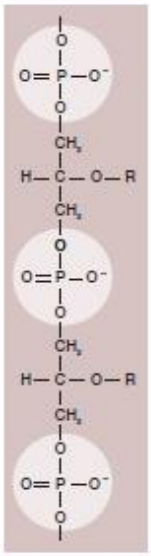


Figure 3.22 Teichoic Acid Structure. The segment of a teichoic acid made of phosphate, glycerol, and a side chain, R. R may represent D-alanine, glucose, or other molecules.

ساختار تیکوئیک اسید. قطعه ای از تیکوئیک اسید از فسفات ، گلیسرول و زنجیرهٔ جانبی 0( $R$ ) تشکیل شده است ( $R$ ) ممکن است $D-$ آلانین، گلوکز یا مولکول های دیگر باشد.

فضای پری پلاسمی باکترهای گرم مثبت بین غشای پلاسمایی و دیوارهٔ سلولی قرار دارد و از فضای پری پلاسمی باکترهـای گـرم منفـی کوچک تر است، حتی اگر فضای پریپلاسمی قابل مشاهده و مشخص نباشد باز ممکن است این فضا وجـود داشـته باشـد. پـری پـــلاسم باکتری های گرم مثبت پروتئین های نسبتا محدودی دارد ؛ این محدودیت احتمالاً به علت متخلخل بودن کیسه، پپتیدوگلیکانی است و هر پروتئین ترشحی توسط سلول معمولاً از میان آن عبور می‌کند. آنزیم های ترشحی به وسلیهٔ باکتری های گرم مثبت را اگزوآنزیم می نامنـد این آنزیم ها اغلب تجزیهٔ مواد مغذی پلیمری را بر عهده دارند، زیرا این پلیمرها بزرگ تر از آن هستند که بتوانند از عرض غشای پلاسمایی عبور کنند. پروتئین هایی که در فضای پری پلاسمی باقی می مانند معمولاً به غشای پلاسمایی متصل می‌شوند.

استافیلوکوکوس و بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت دیگر روی پپتیدوگلیکان دیوارهٔ سـلولی دارای لایـه‌ای از پـروتئین هـا هسـتند کـه در میانکنش آن‌ها با محیط اطراف خود دخیل هستند. بعضی از این پروتئین ها به طور غیـر کـووالان بـه پپتیـدوگلیکان، تیکوئیـک اسـید یـا رسپتورهای دیگر متصل شده‌اند برای مثال، پروتئین‌های لایه$S$، به طور غیر کووالان با پلیمرهای پراکنده در سرتاسر دیواره اتصال دارند. به نظر می‌رسد که آنزیم‌های درگیر در سنتز و بازسازی پپتیدو گلیکان به طور غیر کووالان با دیوارهٔ سلولی میانکنش داشته باشند. انواع دیگـر از پروتئین های سطحی به طور کووالان به پپتیدوگلیکان متصل شده‌اند. بسیاری از این پروتئین‌ها دارای اتصال کووالان ، مثل پروتئین $M$ استرپتوکوکوس های پاتوژن، در ویرولانس آن‌ها نقش دارند. مثلاً در اتصال آن‌ها به بافت‌های میزبان و تداخل با دفـاع میزبـان کمـــک می کنند. در استافیلوکوکوس‌ها این پروتئین های سطحی به طور کووالان به پل‌های عرضی پنتاگلیسین پپتیدوگلیکان دیوارهٔ سلولی متصل هستند. آنزیمی به نام سورتاز . اتصال این پروتئین‌های سطحی را به پپتیدوگلیکان گرم مثبت‌ها کاتالیز می‌کند. سورتاز به غشای پلاسـمایی سلول باکتری متصل است.

**نکته**

1. به طور کلی دو نوع تیکوئیک اسید وجود دارد: 1. تیکوئیک اسید دیواره($TA$ یا $WTA$) 2. لیپوتیکوئیک اسـید($LTA$). فـرم دیـواره در تمام گرم مثبت ها وجود ندارد. لیپوتیکوئیک اسید با اتصال کووالانسی به گلیکولیپیدهای غشایی متصل می باشد و در تمام گرم مثبـت هـا وجود دارد.

2. لیپوتیکوئیک اسید در پنوموکوک ها شاخص آنتی ژن فورسمن است.

3. ترکیب شیمیایی اسید تیکوئیک تابع شرایط محیط است. در صورتی که باکتری در محیط فاقد فسفات رشد کند، به جای اسید تیکوئیک، تیکورونیک اسید ساخته می شود. تیکورونیک اسید حاوی واحدهای $N-$ استیل گالاکتوزآمین و گلوکورونیک اسید است.

**نکته:**

1. اغلب اسیدهای تیکوئیک مقادیری زیاد از اسیدآمینه *D*آلانین را دارند. *D*آلانین و حتی کولین سبب افزایش قدرت آنتی ژنیسیته تیکوئیک اسید می شوند.
2. قدرت آنتی ژنی ریبیتول تیکوئیک اسید به صورت عادی بیشتر از گلیسرول تیکوئیک اسید می باشد.
3. جایگزینی کولین به جای اتانول آمین به عنوان یکی از اجزا اسیدتیکوئیک پنوموکوک ها موجب کاهش پایداری سلول باکتری در برابر اتولایزین ها، نقص در تقسیم سلولی و کاهش قدرت پذیرندگی *DNA* در عمل ترانسفورمیشن می گردد.
4. کپسول تیکوئیک اسید تیپ 6 و هموفیلوس آنفلوآنزای تیپ*II* از جنس ریبیتول تیکوئیک اسید بوده و همچنین با*E.coli* سوش کپسولی *k100* واکنش متقاطع آنتی ژنی دارند.
5. وجود تیکوئیک اسید در باکتری های گرم مثبت با انتقال منیزیم به درون باکتری در ارتباط بوده و به این منظور نوعی نفوذ پذیری انتخابی را برای باکتری های گرم مثبت ایجاد می کند که این نفوذپذیری شبیه به سد غشا خارجی باکتری های گرم منفی عمل می کند.
6. محل اتصال تیکوئیک اسید به پپتیدوگلی کان در باکتری های گرم مثبت کربن شماره 6 از *N* استیل مورامیک اسید می باشد(همان کربنی که در پپتیدوگلی کان *O*استیله شده توسط پل اکسیژنی به گروه استیل متصل می گردد.
7. تیکوئیک اسید در استافیلوکوک اورئوس از جنس ریبیتول فسفات با استخلاف *N* استیل گلوکز آمین بوده و به عنوان پلی ساکارید *A* مطرح می باشد.
8. لیپوتیکوئیک اسید، یک گلیسرول تیکوئیک اسید است که به یک گلیکولیپید در غشا سیتوپلاسمی متصل می‌گردد. گلیکولیپید باعث می‌شود که یک انتهای مولکول گلیسرول تیکوئیک اسید با انتهای هیدروفیل غشا سیتوپلاسمی اتصال برقرار کند.
9. مدارک مستندی وجود دارد که ضخامت و درجه بالای اتصالات عرضی پپتیدوگلیکان، ویژگی‌های غربال‌گری(انتخابگری) به دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت می‌بخشد. این خصوصیت فیلتراسیون همراه با بار منفی ثابت(که توسط پلی‌مرهای آنیونی متصل به پپتیدوگلیکان حاصل می‌شوند) محدودیت‌های قابل توجهی، برای مولکول‌هایی که می‌توانند آزادانه از طریق دیواره سلولی وارد یا خارج شوند، ایجاد می‌کند. علی‌رغم وجود پلی‌مرهای آنیونی همراه(که به طور کوالان اتصال دارند) و طبیعت قطبی خود پپتیدوگلیکان، سطح بیش‌تر باکتری‌های گرم مثبت، هیدروفوبیسیته قابل توجهی نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که پروتئین‌های متصل به دیواره، اسیدهای لیپوتیکوئیک(که به صورت کوالان به پپتیدوگلیکان اتصال دارند) و سایر لیپوگلیکان‌ها مسئول اصلی این ویژگی سطحی می‌باشند.
10. پروتئین‌های سطحی در باکتری‌های گرم مثبت عموما در سه گروه قرار می‌گیرند:

الف) آن‌هایی که از طریق ناحیه *C*–ترمینال خود در پوشش سلولی لنگر انداخته‌اند. اتصال این گونه پروتئین‌ها به پپتیدوگلیکان توسط یک توالی حفاظت شده از اسیدهای آمینه در ناحیه *C*–ترمینال پروتئین، که به عنوان هدف برای آنزیم سورتاز(نوعی ترانس آمیداز) عمل می کند، علامت دهی می شود. طی این واکنش ترانس پپتیداسیون، ناحیه *C*–ترمینال پروتئین حذف شده و به طور همزمان قسمت باقیمانده پروتئین توسط پیوند پپتیدی به زنجیره جانبی پپتیدی در پپتیدوگلیکان اتصال می‌یابد. در مورد پروتئین *A*، این پیوند کوالان بین باقیمانده ترئونین در پروتئین *A* و باقیمانده گلیسین در پل تقاطعی پنتاگلیسین بین زنجیره‌های پپتیدوگلیکان تشکیل می‌گردد. این حالت مشابه با اتصال کوالان لیپوپروتئین متصل به غشا خارجی در باکتری‌های گرم منفی است. ناحیه *N*–ترمینال این پروتئین‌ها، دارای ویژگی‌های اختصاصی به منظور اتصال به پروتئین‌های میزبان(مانند ایمنوگلوبولین‌ها، فیبرینوژن، فیبرونکتین و کلاژن) می‌باشد، مانند پروتئین *A* باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و پروتئین *M* گونه *Streptococcus pyogenes*. پروتئین سطحی اینترنالین در *Listeria monocytogenes* عضو دیگری از این پروتئین‌ها محسوب می‌شود که در تهاجم و کلونیزاسیون این باکتری در سلول میزبان نقش حیاتی دارد.

ب) آن‌هایی که از طریق ناحیه *N*–ترمینال خود به غشا سیتوپلاسمی اتصال دارند(لیپوپروتئین‌ها).

ج) آن‌هایی که به واسطه برهمکنش‌های هیدروفوب یا نیروهای یونی به سلول متصل شده‌اند. پروتئین‌های دیگری نیز در سطح سلول باکتری‌های گرم مثبت یافت شده‌اند که به طور غیرکوالان ولی محکم به دیواره سلولی پیوند شده‌اند. در واقع، این‌ها از جنس لیپوپروتئین هستند که با لیپوپروتئین مورئین در باکتری‌های گرم منفی شباهت دارند. یک نمونه از این لیپوپروتئین‌ها، پنی سیلیناز(β–لاکتاماز) باکتری *Bacillus licheniformis* است. پروتئین سطحی *CshA* (با وزن مولکولی 259 کیلودالتون) در باکتری *Streptococcus gordonii* باعث تشکیل رشته‌های هیدروفوب در سطح سلول این باکتری شده و شانس برهمکنش آن را با سلول‌های دیگر در بافت دهان افزایش می‌دهد.

11. پروتئین *A* در باکتری استرپتوکوکوس اورئوس از جمله پروتئین‌های سطحی می‌باشد که توانایی اتصال به ایمنوگلوبولین *G* یا *IgG* را دارد. این پروتئین می‌تواند به ناحیه *Fc* در *IgG* (بخش‌های *CH2* و *CH3*) (به استثنای زیر رده *IgG3*) اتصال یافته و مانع از

اتصال $IgG$ به گیرنده‌های $Fc$ خود گردد. لذا، پروتئین $A$ با اتصال به $IgG$ می‌تواند با فرایند فاگوسیتوز باکتری‌های اپسونیزه شده مداخله نماید. این پروتئین می‌تواند به صورت خارج سلولی نیز ترشح گردد و در این حالت کارایی بیش‌تری در مقایسه با شکل متصل به باکتری خواهد داشت. اخیرا مشخص شده است که پروتئین $A$ می‌تواند به یک پروتئین ماتریکس خارج سلولی(فاکتور $Von\ Willebrand$) که در هوموستازی طبیعی میزبان نقش مهمی دارد، متصل گردد. با وجود این، نقش دقیق پروتئین $A$ در ویرولانس این باکتری نامعلوم است.

12. در ساختار پروتئین $A$ از ناحیه $N$–ترمینال به بعد، 5 ناحیه مشابه تکراری متوالی(هر کدام با طول تقریبی 60 اسید آمینه) قرار دارد که به ترتیب با حروف $B$، $A$، $D$، $E$ و $C$ مشخص می‌شوند. این پنج ناحیه تشکیل سه مارپیچ $\alpha$ را می‌دهند که به $IgG$ متصل می‌گردند. پروتئین $A$ دارای یک توالی 6 اسید آمینه‌ای اختصاصی به نام $LPXTG$ می‌باشد که در اتصال آن به دیواره باکتری نقش دارد.

13. گونه $Streptococcus\ pyogenes$ از معروف‌ترین استرپتوکوک‌های گروه $A$ می‌باشد. این باکتری‌ها در سطح خود دارای ساختارهایی به نام پروتئین $M$ می‌باشند که از پروتئین‌هایی سطحی محسوب می‌گردد(استرپتوکوک‌های گروه‌های $C$ و $G$ نیز می‌توانند این پروتئین را داشته باشند). پروتئین $M$ خاصیت ضدفاگوسیتوزی دارد.

14. در ساختار پروتئین $M$، از قسمت $N$–ترمینال به بعد 4 ناحیه وجود دارد که با علائم $C$، $B$، $A$ و $D$ مشخص می‌شوند. هر کدام از این نواحی دارای چند قطعه تکراری متوالی می‌باشند. برای مثال ناحیه $A$ دارای 5 قطعه $A_1$ تا $A_5$ است. این نواحی چهارگانه، یک ساختار مارپیچ میله‌ای را در مرکز پروتئین $M$ تشکیل می‌دهند. قسمت $C$–ترمینال پروتئین $M$ ساختار متفاوتی از سایر قسمت‌های آن دارد. در مجاور ناحیه $D$، یک توالی غنی از اسیدهای آمینه گلیسن و پرولین(و میزان کم‌تری نیز ترئونین و سرین) قرار دارد که حاوی اسیدهای آمینه هیدروفوب(22– 15 باقیمانده) و در ادامه چند اسید آمینه باردار می‌باشد. این ناحیه، از غشا سیتوپلاسمی عبور می‌کند به طوری که چند باقیمانده باردار در سیتوپلاسم قرار می‌گیرند.

15. این پروتئین بیش‌تر در استرپتوکوک‌های گروه $G$ یافت می‌شود و توانایی اتصال به $IgG$ و پروتئین آلبومین میزبان را دارد. محل اتصال به آلبومین در ناحیه $N$–ترمینال این پروتئین قرار می‌گیرد.

16. اسیدهای تیکوئیک دیواره‌ای پلی‌مرهای آنیونی از گلیسرول فسفات، ریبیتول فسفات یا گلوکوزیل فسفات می‌باشند که به پپتیدوگلیکان متصل می‌گردند.

17. اگرچه همه باکتری‌های گرم مثبت اسیدهای تیکوئیک و لیپوتیکوئیک مرسوم را ندارند، ولی آن‌هایی که فاقد این پلی‌مرها هستند دارای پلی‌مرهای دیگری می‌باشند که از لحاظ عملکردی مشابه پلی‌مرهای آنیونی هستند. برای مثال در $Micrococcus\ luteus$ به جای لیپوتیکوئیک اسید، لیپومانان یافت می‌شود یا رشد باسیلوس سوبتیلیس در محیطی که فسفات محدود می‌باشد منجر به سنتز اسید تیکورونیک به جای اسید تیکوئیک دیواره می‌گردد. این مثال‌ها اهمیت وجود یک پلی‌مر آنیونی دیواره را در خلال رشد ارگانیسم نشان می‌دهد. اسیدهای تیکوئیک از طریق گروه فسفات ریبیتول یا گلیسرول خود، به طور کوالان به مورامیک اسید لایه پپتیدوگلیکان متصل می‌شوند. اسیدهای تیکوئیک حاوی ریبیتول در استافیلوکوکوس اورئوس و برخی از سویه‌های باسیلوس سوبتیلیس از طریق یک واحد اتصالی مشترک به فرمول: $[(glycerol\ phosphate)3\text{-}N\text{-}acetylglucosamine]$ به پپتیدوگلیکان متصل می‌شوند.

18. اسیدهای تیکوئیک حاوی ریبیتول در استرپتوکوکوس پنومونیه(که در حکم آنتی‌ژن $C$ هستند)، نسبت به باکتری‌هایی که تاکنون عنوان نموده‌ایم پیچیده‌تر است.

19. تعداد اندکی از باکتری‌ها مانند میکروکوکوس، فاقد اسید تیکوئیک هستند و به جای آن، اسید تیکورونیک دارند که مانند اسید تیکوئیک به ایجاد بار منفی در سطح این باکتری‌ها کمک می‌کند. به علاوه، در گونه باسیلوس سوبتیلیس سنتز اسیدهای تیکوئیک همیشگی نیست و در شرایط کمبود فسفر، سنتز آن به سرعت غیرفعال می‌گردد. تحت چنین شرایطی، اسیدهای تیکوئیک توسط اسید تیکورونیک جایگزین می‌شوند. اسید تیکورونیک به واسطه داشتن گروه‌های کربوکسیلات در ساختار تکراری خود، در حفظ بار منفی در سطح سلول این باکتری شرکت می‌کند. وجود این بار منفی برای باکتری‌های جنس باسیلوس و احتمالا استافیلوکوکوس اورئوس حیاتی است زیرا در صورت عدم سنتز تیکورونیک اسید، وقوع جهش‌های شرطی در سنتز اسید تیکوئیک تحت شرایط نامساعد، کشنده خواهد بود.

20. آنتی‌ژن $Forssman$ در باکتری $S.pneumoniae$ مشابه با اسید لیپوتیکوئیک است. این آنتی‌ژن در غشا سیتوپلاسمی یافت می‌شود و حاوی لیپیدها و کولین می‌باشد.

21. اسید لیپوتیکوئیک حاصل از $S.pyogenes$ از طریق اسکلت پلی‌آنیونی خود به پروتئین‌های سطحی با بار مثبت(پروتئین‌های $M$) متصل می‌گردند.

22. لاکتوباسیل‌های مولد اسید لاکتیک، مانند $L.fermenti$ (و نه $L.casei$) می‌توانند توسط آنتی سرم‌هایی بر ضد اسید لیپوتیکوئیک، آگلوتینه شوند.

23. در *L.buchneri* هریون منیزیم به دو گروه فسفات در اسید تیکوئیک دیواره متصل می‌شود.
24. اسیدهای تیکوئیک ممکن است مسیر فرعی کمپلمان را فعال سازند و در اتصال باکتری‌ها به سطوح اپی‌تلیال میزبان نقش داشته باشند. تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت فاقد اسیدهای لیپوتیکوئیک کلاسیک هستند و به جای آن، پلی‌مرهایی با ویژگی‌های شیمیایی مشابه با اسیدهای لیپوتیکوئیک و با فراوانی بیش‌تر دارند. این پلی‌مرها عبارت‌اند از: ماکروآمفی‌فیل‌ها، لیپوگلیکان‌ها یا گلیکولیپیدهای سطح سلول. وجود اسیدهای لیپوتیکوئیک برای پوشش سلولی ضروری است و تاکنون جهش یافته‌های عاری از اسید لیپوتیکوئیک هرگز جداسازی نشده‌اند.
25. بسته به گونه باکتریایی، عملکردهای دیگری از قبیل اتصال، تشکیل بیوفیلم، تحمل نسبت به اسید، تجمعات همزمان بین گونه‌ای، تاخوردن پروتئین، مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک، حساسیت به *UV* و شرکت در بیماری‌زایی، به اسیدهای تیکوئیک نسبت داده می‌شود.
26. *Beveridge* پیشنهاد نموده است که در باکتری‌های گرم مثبت، پری‌پلاسم در داخل بافت دیواره و به صورت ممزوج با آن، قرار دارد.
27. پروتئین *F* در دیواره سلولی در قسمت غشا خارجی سودوموناس آئروجینوزا که یک باکتری میله‌ای شکل گرم منفی است وجود دارد و یکی از پروتئین‌های پورین(پروتئین‌های کانالی) می‌باشد که استفاده از این پروتئین‌ها به عنوان واکسن، اولین بار توسط *Eagon* و همکارانش مطرح گردید. این پروتئین قادر است در برابر تمام سروتیپ‌های سودوموناس آئروجینوزا ایجاد ایمنی فعال نماید و اثرات سمی و جانبی ندارد. این پروتئین در تمام انواع سودوموناس آئروجینوزا دارای ساختمانی یکسان بوده و در حدود 37 کیلودالتون وزن دارد. در مطالعاتی توانسته‌اند از سویه‌ای از اشرشیاکلی که حاوی ژن کلون شده پروتئین *F* است، استفاده نمایند.
15. اعمال تیکوئیک اسید عبارتند از:
الف. تنظیم فعالیت آمیداز و گلیکوزیداز(مرتبط با تقسیم سلولی)؛ تنظیم فعالیت اتولایزین ها
ب.تاثیر در قدرت *Competency* در ترانسفورمیشن
ج. مقاوم کردن باکتری بر علیه لیزوزیم
د.دخالت در جذب و انتقال یون منیزیم
ه. گیرنده فاژ
و. افزایش بقا باکتری( به منظور مقاومت نسبت به آنزیم های تخریب کننده دیواره)

## دیوارۀ سلولی باکتری‌های گرم منفی

دیواره سلولی باکترهای گرم منفی بسیار پیچیده‌تر از دیوارۀ باکتری‌های گرم مثبت است. در باکتری‌های گرم منفی لایۀ نازکی از پپتیدوگلیکان در نزدیکی غشای پلاسمایی و محصور در فضای پری پلاسمی وجود دارد که کمتر از 5 تا 10٪ وزن دیواره را شامل می‌شود. در *E.coli* ضخامت پپتیدو گلیکان حدود 2 *nm* بوده و تنها از یک یا دو لایه پپتیدوگلیکان تشکیل شده است.
فضای پری پلاسمی باکترهای گرم منفی نیز تفاوت محسوسی با باکترهای گرم مثبت دارد. اندازۀ فضای پری پلاسمی از یک تا 71 *nm* می‌تواند تغییر کند، بعضی از مطالعات اخیر نشان می دهد که این فضا ممکن است 20 تا40٪ حجم کل سلول را در بر گیرد و معمولاً حدود30 تا 70*nm* پهنا دارد. هنگامی که دیوارۀ سلولی بدون آسیب به غشای پلاسمایی زیر آن، به دقت پاره یا حذف شود، آنزیم‌های پری پلاسمی و پروتئین های دیگر آن آزاد می‌شوند و به راحتی می‌توان آن‌ها را مطالعه کرد . بعضی پروتئین های پری پلاسمی در کسب مواد مغذی نقش دارند( مثلاً، آنزیم‌های هیدولیزکننده و پروتئین‌های ترابری). بعضی از پروتئین‌های پری پلاسمی در حفظ انرژی نقش‌دارند، مثلاً باکتری‌های نیترات زدا که نیترات را به گاز نیتروژن تبدیل می‌کنند و باکتری‌هایی که از مولکول‌های معدنی به عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند( شیمیو لیتوتروف) در فضای پری پلاسمی خود دارای پروتئین‌های انتقال دهندۀ الکترون هستند. پروتئین های پری پلاسمی دیگر در سنتز پپتیدوگلیکان و ایجاد تغییر در ترکیبات سمی مضر برای سلول دخیل هستند.
غشای خارجی در بیرون این لایۀ نازک پپتیدوگلیکان قرار داردو از دو راه به سلول متصل می‌شود. اولین راه، لیپوپروتئین‌های براون است که بیشترین پروتئین در غشای خارجی است. این لیپوپروتئین کوچک با پیوند کووالان به پپتیدوگلیکان زیرین متصل است و با انتهای آب گریز خود به درون غشای خارجی وارد شده است. غشای خارجی و پپتیدوگلیکان با این لیپوپروتئین به طور محکم به هم متصل شده اند، به طوری که می‌توان آن‌ها را به صورت یک واحد جداسازی کرد. مکانیسم اتصالی دوم وابسته به محل های اتصال بسیاری است که غشای خارجی را به غشا پلاسمایی متصل می کند. در این محل‌ها ظاهراً دو غشا تماس مستقیم با هم دارند. در *E.coli* 20 تا 100 ناحیه تماسی بین دو غشا قابل مشاهده است. محل‌های اتصال ممکن است محل های تماس مستقیم یا محل های واقعی جوش خوردگی غشاها باشد. تصور می‌شود که مواد به جای عبور از پری پلاسم بتوانند به طور مستقیم از طریق این محل‌های اتصال به درون سلول حرکت کنند.

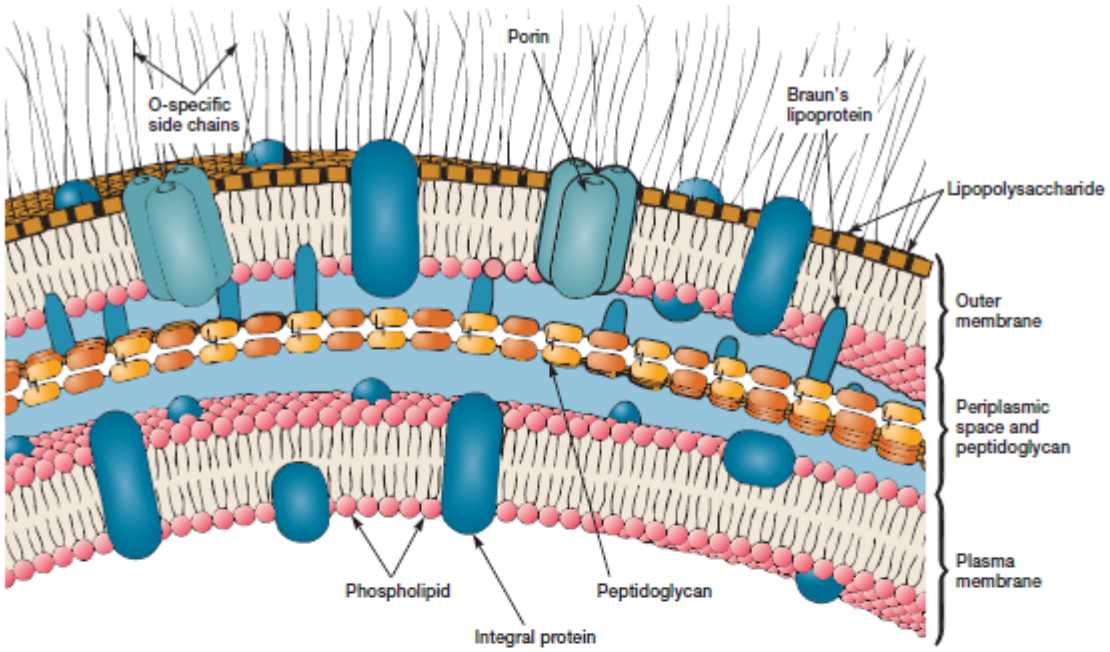



**Figure 3.23 The Gram-Negative Envelope.**

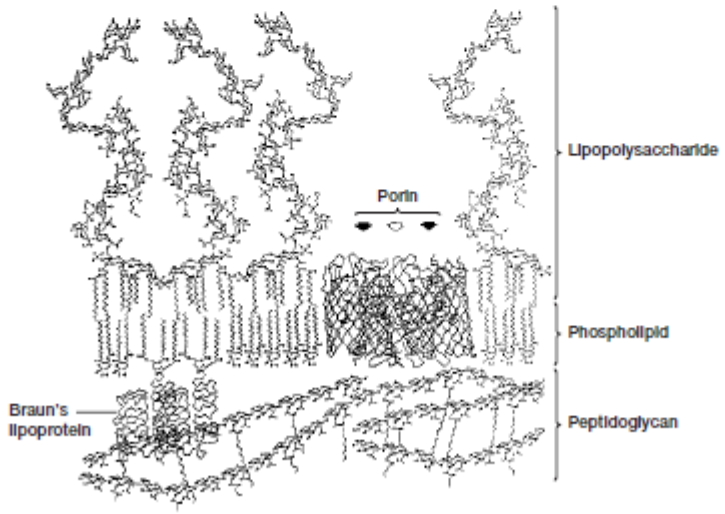



**Figure 3.24 A Chemical Model of the *E. coli* Outer Membrane and Associated Structures.** This cross-section is to-scale. The porin OmpF has two channels in the front (solid arrows) and one channel in the back (open arrow) of the trimeric protein complex. LPS molecules can be longer than the ones shown here.

احتمالاً غیر معمول‌ترین جزء غشای خارجی لیپوپلی‌ساکاریدهای *(LPSs)* آن می‌باشد. این مولکول های بـزرگ و پیچیـده دارای لیپیـد و کربوهیدرات هستند و از سه جزء تشکیل شده اند : (1) لیپید $A$ دارای دو مشتق قندی گلوکز آمین است که هر کدام به سه اسـید چـرب و یک فسفات یا پیرو فسفات متصل شده‌اند. اسیدهای چرب سبب اتصال لیپید $A$ به غشای خارجی مـی شـود، در حـالی کـه بقیـهٔ مولکـول $LPS$ از سطح به طرف بیرون کشیده شده است. پلی ساکارید مرکزی به لیپید $A$ اتصال دارد. در *Salmonella* پلی ساکارید مرکزی از 10 قند که بسیاری از آن ها ساختار غیر معمول دارند، تشکیل شده است. زنجیرهٔ جانبی $O$ زنجیرهٔ پلی سـاکاریدی اسـت کـه از بخـش مرکزی به طرف بیرون گسترش پیدا کرده است . این زنجیره دارای قندهای ویژه متعددی است که ترکیب آن بسته به سویه‌های بـاکتری متفاوت است.

$LPS$ دارای عملکردهای بسیار مهمی است. پلی ساکارید مرکزی$LPS$ معمولاً دارای قندهای باردار و فسفات است و لذا در بار منفی سطح باکتری نقش دارد. لیپید $A$ به عنوان بخش عمده‌ای از نیم لایهٔ بیرونی غشای خارجی به پایداری ساختاری غشای خارجی نیز کمک می کند. $LPS$ ممکن است در اتصال باکتری به سطوح و تشکیل بیوفیلم نیز کمک کند. عملکرد اصلی $LPS$ در ایجاد سدی در برابر نفوذ پذیری در غشای خارجی است. تصور می‌شود که هندسهٔ $LPS$و میانکش‌های میان $LPS$های مجاور ورود نمک‌های صفراوی، آنتی بیوتیک‌ها و دیگر مواد سمی را که ممکن است سبب آسیب یا مرگ باکتری شود، محدود کند. همچنین $LPS$ در حفاظت باکتری‌های گرم منفی بیماری زا در مقابل دفاع میزبانی نقش دارد. زنجیرهٔ جانبی $O$ در $LPS$ به علت تحریک پاسخ ایمنی به آنتی ژن $O$ نیز معروف است. این پاسخ منجر به تولید آنتی بادی‌هایی می‌شود که به $LPS$ اختصاصی سویه ای متصل می شوند که پاسخ ایمنی را تحریک کرده است. با وجود این، بسیاری از باکتری های گرم منفی قادر به ایجاد تغییرات سریع در ماهیت آنتی ژنی زنجیرهٔ جانبی $O$ خود هستند و بنابراین دفاع میزبان را خنثی می‌کنند. بخش جالب $LPS$ لیپید $A$ است که اغلب سمی است و لذا $LPS$ می‌تواند به عنوان اندوتوکسین یا توکسین داخلی عمل کند و علائمی ایجاد می کند که در عفونت‌های باکتری های گرم منفی دیده می‌شوند. اگر باکتری وارد جریان خون شود، اندوتوکسین می‌تواند باعث نوعی از شوک سمی شود که برای آن هنوز درمان مستقیم وجود ندارد.

علی رغم نقش $LPS$ در ایجاد سدی در برابر نفوذپذیری، عشای خارجی بسیار نفوذ پذیرتر از غشای پلاسمایی است و به مولکول‌های کوچکی مثل گلوکز و دیگر مونوساکاریدها اجازهٔ عبور می‌دهد. این میزان از نفوذ پذیری به واسطهٔ وجود پروتئین های پورین است. اغلب پروتئین های پورینی برای تشکیل مجموعه های سه تایی در غشای خارجی گردهم می آیند. هر پروتئین پورینی عرض غشای خارجی را طی می‌کند و شکلی کم و بیش لوله مانند دارد، مجرای باریک این پروتئین اجازه عبور مولکول های کوچک تر از 600 تا 700 دالتون را میسر می‌سازد. با وجود این، مولکول های بزرگ‌تری مثل ویتامین $B12$ نیز از غشای خارجی عبور می‌کنند. چنین مولکول‌های بزرگی از میان پورین‌ها عبور نمی‌کنند بلکه حامل‌های ویژه‌ای آن‌ها را از عرض غشای خارجی عبور می‌دهند.

انواع پروتئین‌های غشای خارجی عبارت‌اند از:

1. پورین‌ها: غیراختصاصی عمل می‌کنند.
2. شبه پورین‌ها: اختصاصی عمل می‌کنند.
3. غیرپورین‌ها: اختصاصی عمل می‌کنند.

**پورین‌ها**

پروتئین‌های تری‌مری هستند که هر مونومر آن‌ها از 16 صفحه بتا تشکیل می‌گردد(پروتئین‌های غشای خارجی برخلاف پرمئازهای غشایی که دارای ساختمان آلفا هلیکسی هستند، ساختمان بتاشیتی (صفحات بتا) دارند)، پورین‌ها بشکه‌ای شکل بوده و داخل آن‌ها آب وجود دارد و به این واسطه سبب عبور مواد هیدروفیل از غشا می‌شوند.

پورین‌ها و دیگر پروتئین‌های غشایی از طریق اتصالات بایر از سیتوپلاسم به غشای خارجی می‌آیند؛ اتصالات بایر سبب اتصال غشای سیتوپلاسمی به غشای خارجی می‌شوند. پورین‌ها را پروتئین‌های ماتریکس یا پروتئین‌های اصلی غشای خارجی ( $Principle\ O.M$ $POMP =pro$) هم می‌گویند. معمولا مولکول‌های کوچک‌تر از 600 دالتون می‌توانند از پورین‌ها عبور کنند.

**انواع پورین‌ها**

$ompF$: در فشار اسمزی پایین بیان شده و سبب ورود کاتیون‌ها مثل منیزیم می‌گردد.

$ompC$: در فشار اسمزی بالا و در شرایط وجود باکتری در دستگاه گوارش به منظور کاهش فشار اسمزی بیان می‌گردد.

پورین‌های $ompC$ و $ompF$ پروتئین‌هایی هستند که منافذ یا کانال‌هایی در غشا خارجی برای عبور مولکول‌های هیدروفوب ایجاد می‌کنند.

$phoE$: در شرایط فقر فسفات به منظور ورود آنیون‌هایی نظیر فسفات بیان می‌گردد.

**نکته:** بیان $ompC$ و $ompF$ در شرایط تغییرات اسمزی می‌باشد، قدر $ompF$ بزرگ‌تر از $ompC$ می‌باشد.

$ompE$: در $E.coli$های موجود در دستگاه گوارش به منظور مقاومت در برابر املاح صفراوی بیان می‌گردد.

**شبه پورین‌ها**

دو دسته عمده از پروتئین‌های شبه پورینی $Lam\text{-}B$ و $Tsx$ می‌باشند.

$Lam\text{-}B$ گیرنده فاژ لامبدا بوده و سبب عبور مالتوز و مالتودکسترین می‌گردد. ضمنا این شبه پورین‌های قابل القاء هستند. $Tsx$ گیرنده فاژ $T6$ بوده، اجازه عبور نوکلئوزیدها و اسیدهای آمینه را از غشا می‌دهد.

**نکته:** عبور مواد از پورین‌ها و شبه پورین‌ها بر اساس انتشار ساده بوده و نیازی به انرژی ندارد.

## غیرپورین‌ها

### پروتئین‌های وابسته به *Ton-B*

مولکول‌ها برای انتقال از طریق این پروتئین‌ها نیاز به انرژی دارند که این انرژی توسط پروتئین *Ton-B* تامین می‌گردد. رسپتورهای مطرح در این قسمت نسبت به سوبسترای خود بسیار اختصاصی عمل کرده و سوبستراهای اندکی مثل ویتامین*B* ، ویتامین *B12* و کمپلکس شلاتور–آهن یا سیدروفور–آهن را انتقال می‌دهند. همچنین *Trace element*ها هم با این واسطه انتقال می‌یابند.

**:*ompA***

این پروتئین دارای بیشترین فراوانی در سطح غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد و دارای نقش‌های مختلفی می‌باشد:

1. اتصال غشای خارجی به پپتیدوگلیکان
2. گیرنده پیلی جنسی در هنگام کانجوگیشن
3. گیرنده فاژ و باکتریوسین‌ها

**نکته:**

1. *ompA* سبب اتصال پپتیدوگلیکان به غشای خارجی می‌گردد و به عنوان لنگر غشایی مطرح می‌باشد.
2. بیوسنتز همه پروتئین‌های غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی توسط ریبوزوم‌های متصل به غشا صورت می‌گیرد و از محل اتصالات بایر وارد غشای خارجی می‌شود.

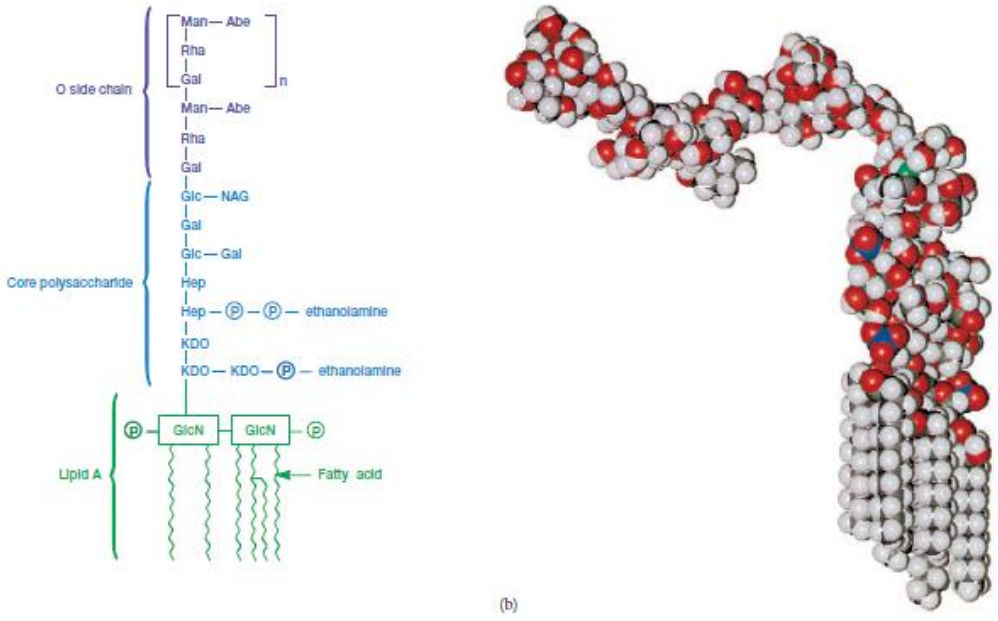
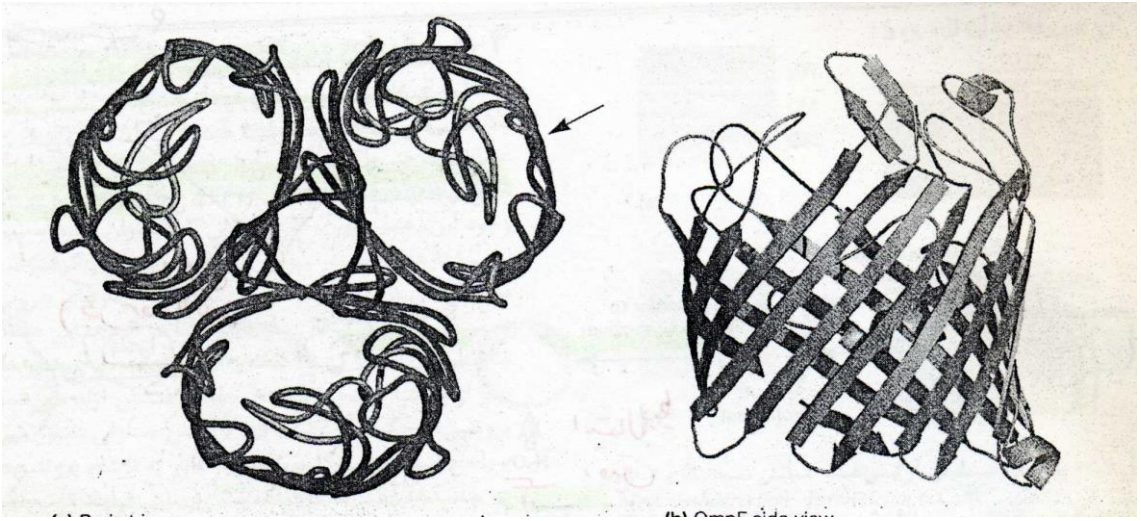



**Figure 3.25 Lipopolysaccharide Structure.** (a) The lipopolysaccharide from *Salmonella*. This slightly simplified diagram illustrates one form of the LPS. Abbreviations: Abe, abequose; Gal, galactose; Glc, glucose; GlcN, glucosamine; Hep, heptulose; KDO, 2-keto-3-deoxyoctonate; Man, mannose; NAG, *N*-acetylglucosamine; P, phosphate; Rha, L-rhamnose. Lipid A is buried in the outer membrane. (b) Molecular model of an *Escherichia coli* lipopolysaccharide. The lipid A and core polysaccharide are straight; the O side chain is bent at an angle in this model.

ساختار لیپوپلی ساکارید. ( الف ) لیپوپلی ساکارید*Salmonella* این تصویر نسبتاً ساده شده، شکلی از *LPS* را نشان می دهد. اختصارات *Abe* ، آبکوز؛ *Gal* گلوکز ؛ *GlcN* ، گلوکزآمین *Hep* هپتولوز؛*KDO* 2- کتو 3- دئوکسی اکتانات؛ *Man* مانوز؛ *NAG* ، *N* – استیل گلوکزآمین؛ *P* فسفات *L*، *Rha* – رامنوز. لیپید *A* درغشای خارجی فرو رفته است. (ب) مدل مولکولی لیپوپلی ساکارید *Escherichia* لیپید *A* و پلی ساکارید مرکزی مستقیم هستند ولی در این مدل زنجیرهٔ جانبی *O* به طرفی خمیده شده است.



شکل 3-28- پروتئین‌های پورین. دو نما از پورین *OmpF* در *E.coli* ( الف) ساختار پورین هنگامی که از بالا به طرف پایین سطح بیرونی غشای خارجی مشاهده می‌شود ( یعنی، نمای بالایی). هر کدام از سه پروتئین پورینی یک کانال را ایجاد می‌کنند. هر پورین به سه لوپ قابل تقسیم است. نمای جانبی یک واحد پورینی ساختار شبکهٔ بتا را که مشخصهٔ پروتئین های پورینی است، نشان می دهد.

نکته

1. کامل ترین دیواره سلولی در باکتری های گرم منفی مربوط به خانواده های انتروباکتریاسه و سودوموناسه می باشد،لایه لیپوپروتئین در همه گرم منفی ها وجود ندارد ولی در دو خانواده مذکور به خوبی دیده می شود.
2. لایه فسفولیپیدی غشا خارجی که بعد از لیپوپروتئین قرار می گیرد بدون استثناء در تمام گرم منفی‌ها دیده می‌شود، البته در باکتری‌های روده‌ای غشای خارجی اغلب همان *LPS* می‌باشد که به دلیل شارژ منفی که دارد با کاتیون‌ها به صورت غیرکووالان اتصال داده و مانع از ورود مواد هیدروفوب و املاح صفراوی می‌گردد که به این پدیده *Barrier effect* می‌گویند.
3. غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی از دو لایه تشکیل شده که لایه داخلی آن از فسفاتیدیل اتانول آمین تشکیل شده است(مهمترین فسفولیپید غشای خارجی)
4. فضای پری پلاسمی در باکتری‌های گرم منفی حاوی پروتئین‌های پذیرنده متیل(*MCPs*)، آنزیم‌های هیدرولایتیک و کربوهیدرات‌های شاخه‌دار می‌باشد. نقش الیگوساکاریدهای شاخه‌دار در فضای پری پلاسمی تنظیم فشار اسمزی می‌باشد. این الیگوساکاریدها اغلب دارای شاخه‌هایی از فسفات، فسفاتیدیل اتانول آمین و *O* سوکسینیل می‌باشند. الیگوساکاریدهای شاخه‌دار فضای پری پلاسمی را *MDO* می‌گویند و میزان آن‌های رابطه معکوس با میزان فشار اسمزی دارد.
5. لیپوپروتئین براون مهمترین لیپوپروتئین در غشای خارجی است که در همه گرم منفی‌ها به جزء سودوموناس‌ها دیده می‌شوند. لیپوپروتئین براون فاقد اسیدهای آمینه آروماتیک بوده و از طریق لایه لیپیدی خود به فسفولیپید و از طریق پروتئین خود به *DAP* متصل می‌گردد(اتصال غشای خارجی به پپتیدوگلیکان).
6. موتانت‌های فاقد لیپوپروتئین براون و همچنین فاقد *ompA*(عمده‌ترین پورین غشای خارجی) پروتئین‌های پری پلاسمی خود را به خارج ترشح می‌کنند، این پروتئین‌ها قاعدتا باید در فضای پری پلاسمی باقی بمانند ولی ترشح می‌شوند.

## دیوارهٔ سلولی و نقش حفاظتی آن در مقابل فشار اسمزی

میکروب ها از مکانیسم های متعددی برای پاسخ به تغییرات فشار اسمزی بهره می‌برند. فشار اسمزی هنگامی ایجاد می‌شود که غلظت محلول‌های درون سلول با غلظت بیرون آن تفاوت داشته باشد و پاسخ های سازگار دهنده برای به تعادل رساندن غلظت این محلول ها وارد عمل می شوند. با وجود این که در وضعیت خاصی میزان فشار اسمزی ممکن است از حد آستانهٔ تحمل سلول در سازگارسازی فراتر رود. در این موارد، حفاظت اضافی توسط دیوارهٔ سلولی تامین می‌شود. وقتی سلول در محلول هیپوتونیک ( محلولی که در آن غلظت محلول از غلظت سیتوپلاسم کم تر است) قرار می‌گیرد، آب به داخل سلول وارد می شود و سبب تورم آن می گردد. در صورت فقدان دیوارهٔ سلولی، اگر فشار ایجاد شده روی غشای پلاسمایی بیش از حد سازگاری آن باشد، سلول پاره خواهد شد ( فرآیندی به نام لیز). بر عکس، در محلول‌های هیپرتونیک، آب به بیرون از سلول جریان می یابد و سیتوپلاسم چروکیده می شود. ( فرآیندی به نام پلاسمولیز).

ماهیت حفاظتی دیوارهٔ سلولی هنگامی کاملاً روشن می‌شود که سلول باکتری را با لیزوزیم یا پنی سیلین تیمار کنند. آنزیم لیزوزیم با هیدرو لیز پیوند متصل کننده $N-$ استیل مورامیک اسید با $N-$ استیل گلوکز آمین به پپتیدوگلیکان حمله می کند. مکانیسم عمل پنی سیلین متفاوت است. پنی سیلین مانع سنتز پپتیدوگلیکان می‌شود. اگر باکتری‌ها در حالی که درون محلول هیپوتونیک هستند، با هر دوی این مواد تیمار شوند، لیز خواهند شد. با وجود این ، اگر باکتری‌ها درون محلول ایزوتونیک قرار داشته باشند، می توانند زنده بمانند و رشد طبیعی داشته باشند. . تیمار باکترهای گرم مثبت با لیزوزیم یا پنی سیلین منجر به حذف کامل دیوارهٔ سلولی می‌شود. سلول به پروتوپلاست تبدیل می گردد. هنگامی که باکتری‌های گرم منفی در معرض لیزوزیم یا پنی سیلن قرار گیرند، لایهٔ پپتیدوگلیکان حذف می‌شود ولی غشای خارجی باقی خواهد ماند. سلول های حاصل را اسفروپلاست می‌نامند. هر دو سلول پروتوپلاستی و اسفروپلاستی به

علت از دست دادن دیوارهٔ سلولی خود به فشار اسمزی حساس هستند و اگرآن ها را به محلول رقیقی منتقل کنند، به خاطر جریان کنترل نشدهٔ آب لیز خواهند شد.

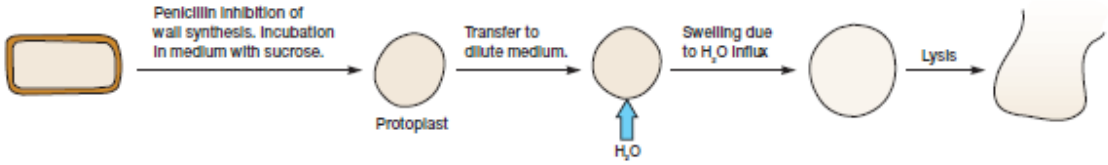



**Figure 3.26 Protoplast Formation.** Protoplast formation induced by incubation with penicillin in an isotonic medium. Transfer to dilute medium will result in lysis.

تشکیل پروتوپلاست و لیز آن. تشکیل پروتوپلاست با گرماگذاری باکتری‌ها با پنی سیلین در یک محیط ایزوتونیک القا می‌شود. انتقال پروتوپلاست ها به محیط رقیق منجر به لیز آن ها خواهد شد.

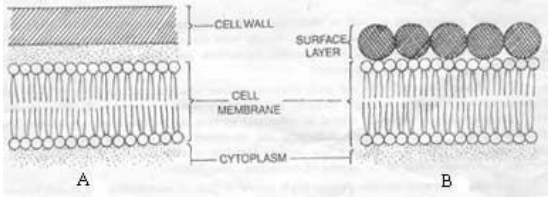
اگر چه اغلب باکتری‌های برای بقا به دیوارهٔ سلولی سالم نیازمند هستند ولی گروهی از سلول‌ها به دیواره سلولی نیازی ندارند. مثلاً مایکوپلاسماها که فاقد دیوارهٔ سلولی و حساس به فشار اسمزی هستند، باز هم می‌توانند در محیط‌های رقیق یا محیط‌های خشکی رشد کنند، زیرا غشای پلاسمایی آن‌ها از غشای پلاسمایی باکتری های دیواره دار به فشار اسمزی مقاوم تر است. اگر چه دلیل واقعی این امر روشن نیست، ولی وجود استرول ها در غشاهای بسیاری از گونه‌ها ممکن است پایداری اضافی به آن‌ها ببخشد. به علت نداشتن دیوارهٔ سلولی محکم، مایکوپلاسماها تبدل به چند شکلی شدن یا تغییر شکل دارند.

## دیوارهٔ سلولی آرکی‌ها

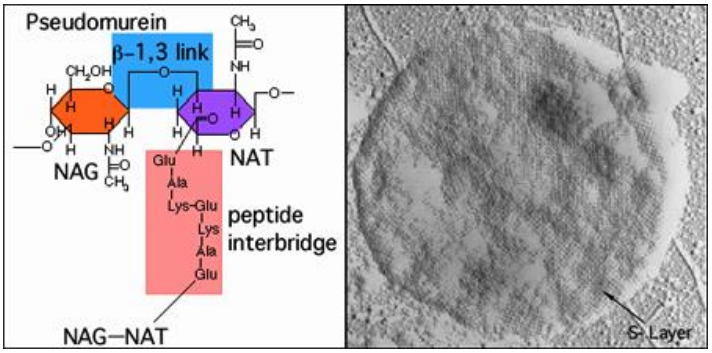
قبل از آن که آرکی ها به عنوان قلمرو مستقلی از حیات شناخته شوند، آرکی‌های به عنوان باکترهای گرم مثبت و گرم منفی تشخیص داده می‌شدند. با وجود این، واکنش رنگ آمیزی آرکی ها همانند واکنش گرم در باکتری‌ها همبستگی واقعی با یک ساختار مشخصی از دیوارهٔ سلولی را نداشت. ساختار و شیمی دیوارهٔ آرکی، با باکتری‌های متفاوت است. دیوارهٔ سلولی آرکی‌ها فاقد پپتیدو گلیکان است و تنوع قابل ملاحظه‌ای نیز بر حسب ساختار شیمیایی نشان می‌دهند. بعضی از ویژگی های اصلی دیوارهٔ سلولی آرکی ها دراین بخش بیان می‌شود.

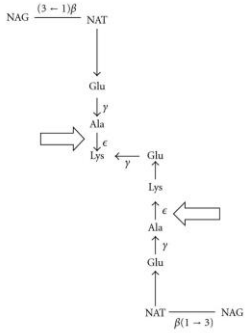
بسیاری از آرکی‌ها دارای دیوارهٔ سلولی تک لایهٔ همگن و ضخیمی مشابه باکتری گرم مثبت هستند. این آرکی‌ها اغلب در رنگ آمیزی، گرم مثبت رنگ می‌شوند. شیمی دیوارهٔ آن‌ها از گونه ای به گونهٔ دیگر متغیر است، اما معمولاً از هتروپلی ساکارید پیچیده‌ای تشکیل شده‌اند. مثلاً *Methanobacterium* و بعضی دیگر از آرکی‌ها تولید کنندهٔ متان ( متانوژن‌ها ) در دیوارهٔ خود دارای مورین کاذب هستند: پلیمری شبیه پپتیدوگلیکان که در اتصالات عرضی آن به جای آمینو اسید $D$ دارای آمینواسید $L$ ، به جای $N$ – استیل مورامیک اسید دارای $N$ – استیل تالوزآمین اورونیک اسید و به جای پیوندهای گلیکوزیدی $\beta(1\rightarrow 4)$ دارای پیوندهای گلیکوزیدی $\beta(1\rightarrow 3)$ هستند. دیگر آرکی‌ها مثل *Methanobacterium* و آرکی‌نمک دوست *Halococcus* دارای پلی ساکاریدهای پیچیده‌ای شبیه کندروایتین سولفات بافت پیوندی جانوران هستند.

بسیاری از آرکی‌ها که گرم منفی رنگ می‌گیرند. دارای لایه‌ای از گلیکوپروتئین با پروتئین در بیرون از غشای پلاسمایی خود هستند. ضخامت این لایه ممکن است به 20 تا 40 *nm* برسد. گاهی دیواره از دو لایه تشکیل شده است ( یک لایهٔ الکترودنس و یک غلاف احاطه کننده) . بعضی متانوژن ها *(Methanolobus)*، آرکی‌های نمک دوست *(Halobacterium)* و ترموفیل های شدید *(Pyrodictium , Talobacterium , Sulfolobs)* دارای گلیکوپروتئین در دیوارهٔ سلولی خود هستند. در مقابل، متانوژن های دیگر *(Methanomicrobium Methanococcus, Methanogenium)*و ترموفیل افراطی*Desulfurococcus* دارای دیوارهٔ پروتئینی هستند.




پوشش سلولی آرکی ها. نمایش شماتیک و تصاویر میکروسکوپ الکترونی ( الف) *Methanomicrobium formicicum* ( ب) *Cw.Thermoproteus tenax* ، دیوارهٔ سلولی؛ *SL* ، لایهٔ سطحی ؛ *CM* . غشای سلولی یا غشای پلاسمایی ؛ *CPL* ، سیتوپلاسم.



ساختار مورین کاذب. آمینو اسیدها و گروه های آمینوی داخل پرانتزها همیشه وجود ندارد . $Ac$ نشان دهندۀ گروه استیل است.

**نکته:**

1. به استثنای تعدادی از باکتری‌های حقیقی(مانند پلانکتومایسس، مایکوپلاسما و ایزوسفرا) فقدان پپتیدوگلیکان یک ویژگی تشخیصی در آرکی باکتری‌ها می‌باشد که آن‌ها را از باکتری‌های حقیقی متمایز می‌سازد. به طور کلی، از لحاظ مورفولوژیک 5 نوع پوشش سلولی در آرکی باکتری‌ها یافت شده است:

نوع $I$ شامل یک لایه پلی‌ساکاریدی مشابه با پپتیدوگلیکان باکتری‌ها است و لذا پپتیدوگلیکان (مورئین) کاذب نامیده می‌شود. این لایه معمولا شامل یک هتروپلی‌ساکارید اسیدی(سولفاته یا غیرسولفاته) است و نسبت به رنگ‌آمیزی گرم واکنش مثبت نشان می‌دهند. اسکلت این پپتیدوگلیکان کاذب متشکل از تکرارهای متناوبی از دو ترکیب قندی $N$–استیل گلوکزآمین و $N$–استیل تالوزآمینورونیک اسید(به جای $N$–استیل مورامیک اسید در پپتیدوگلیکان باکتری‌ها) با پیوندهای(β 1→3)[به جای پیوندهای (β 1→4)] در پپتیدوگلیکان باکتری‌ها می‌باشد. پپتیدهای عرضی که به گروه کربوکسیل تالوزآمینورونیک اسید وصل می‌شوند حاوی اسیدهای آمینه $L$ از جمله لیزین، گلوتامیک اسید، آلانین، ترئونین و سرین، می‌باشند. لذا آنتی‌بیوتیک‌های مهار کننده بیوسنتز مورین در باکتری‌ها، تاثیری بر روی سنتز مورین کاذب(سودومورین) ندارد.

نوع $II$ که حالت نادری است نیز شامل یک لایه پپتیدوگلیکان کاذب با یک لایه سطحی ($S$) از جنس پروتئین است که لایه محکمی را تشکیل می‌دهد و واکنش گرم در آن مثبت است. این حالت در گونه متاترموس فرویدوس یافت شده است.

بسیاری از آرکی‌باکتری‌های هالوفیل و متانوژن و همه ترمواسیدوفیل‌ها دیواره سلولی نوع $III$ را دارند که واکنش گرم در آن‌ها منفی است. در این باکتری‌ها دیواره فقط شامل یک لایه سطحی منفرد است که از پروتئین یا گلیکوپروتئین تشکیل شده است.

دیواره نوع $IV$ نسبتا پیچیده است. در این حالت چندین سلول توسط یک غلاف(از جنس فیبریل های پروتئینی) در کنار یکدیگر قرار می گیرند. و خود سلول ها توسط یک لایه(احتمالا) پروتئینی احاطه می شوند. این حالت فقط در جنس متانواسپیریلوم یافت شده است.

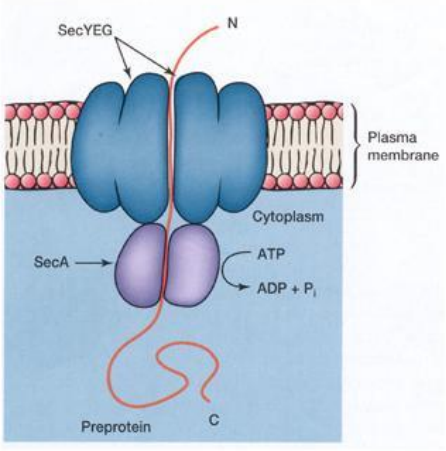
در نوع $V$ اصولا دیواره سلولی وجود ندارد و غشا سیتوپلاسمی تنها جز تشکیل دهنده پوشش سلولی محسوب می گردد و در جنس های ترموپلاسما و متانوپلاسما یافت می شود.

اخیرا نوع $VI$ از پلی مرهای دیواره ای در یک گونه آرکی باکتری شدیدا آلکالوفیل به نام ناترونوکوکوس اکالتوس یافت شده است. در این مورد، زنجیره اصلی شامل پلی‌مری از $L$–γ–گلوتامین است که دو نوع الیگوساکارید از طریق گروه α–آمید به آن متصل می‌گردند. یک الیگوساکارید شامل $N$–استیل گالاکتوز آمین و گلوکز و دیگری شامل $N$–استیل گالاکتوز آمین و گالاکتوز می‌باشد.

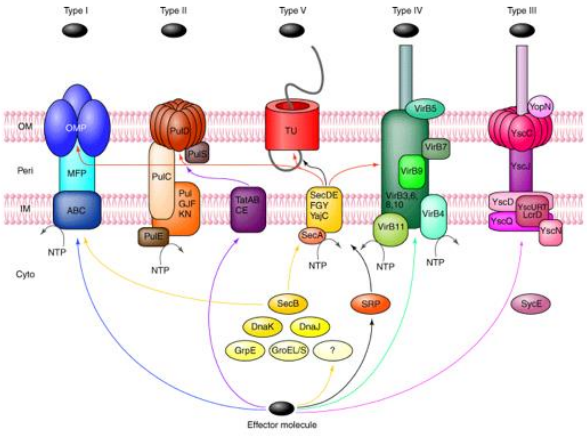
## مروری بر ترشح پروتئین در باکتری‌ها

ترشح پروتئین بسته به این که در باکتری‌های گرم مثبت یا گرم منفی باشد، با مشکلات مختلفی همراه است. برای ترشح پروتئین در باکتری‌های گرم مثبت، پروتئین ها باید از عرض غشای پلاسمایی منتقل شوند. با عبور پروتئین از غشای پلاسمایی، پروتئین از پپتیدوگلیکان نسبتاً متخلخلی به محیط بیرون آزاد می‌شود. در باکتری‌های گرم منفی ترشح پروتئین در مسیر خود موانع بیشتری به همراه دارد. باکتری‌های گرم منفی نیز باید پروتئین را از عرض غشای پلاسمایی عبور دهند، اما به منظور تکمیل فرآیند ترشح پروتئین ها باید بتوانند از دست حملۀ آنزیم‌های تجزیه کنندۀ پروتئین موجود در فضای پری پلاسمی مخفی شوند و همچنین بتوانند از عرض غشای خارجی عبور کنند. در هر دو گروه باکترهای گرم مثبت و گرم منفی، مسیر اصلی انتقال پروتئین‌ها از عرض غشای پلاسمایی، مسیر وابسته به $Sec$ ( وابسته به ترشح ) است.

در باکتری‌های گرم منفی، مکانیسم‌های مختلفی برای انتقال پروتئین‌ها از عرض غشا وجود دارد که بعضی از این مکانیسم ها هیچ نیازی به مسیر وابسته *Sec* ندارند و پروتئین ها را مستقیماً از سیتوپلاسم به خارج سلول انتقال می‌دهند. همهٔ مسیرهای ترشح پروتئین که در این جا بیان می‌شوند در بعضی از مراحل، این مسیر نیازمند صرف انرژی هستند . انرژی معمولاً با هیدرولیز مولکول‌های پر انرژی مثل *ATP* و *GTP* تامین می‌شود، اما شکل دیگری از انرژی ( نیروی محرکهٔ پروتون ) نیز گاهی ایفای نقش می‌کند.




**Complex Protein Secretion Systems in Gram -ve Bacteria**




سیستم های ترشح پروتئین در باکتر های گرم منفی. پنج سیستم ترشحی در باکتری‌های گرم منفی نشان داده شده است. مسیر وابسته به *Sec* و مسیر *TAT* پروتئین‌ها را از سیتو پلاسم به فضای پری پلاسمی آزاد می‌کنند. سیستم های نوع *II*، *V* و گاهی نوع *IV* فرآیند ترشحی شروع شده با مسیر وابسته به*Sec* را تکمیل می‌کنند سیستم *Tat* ظاهراً پروتئین را تنها با مسیر نوع *II* آزاد می‌کند . سیستم‌های نوع *I*و *III* از مسیرهای وابسته به *Sec* و *Tat* استفاده نمی کنند و پروتئین ها را مستقیماً از سیتوپلاسم و از میان غشای خارجی به فضای بیرونی سلول انتقال می‌دهند. سیستم نوع *IV* برای انتقال پروتئین به فضای بیرون سلول هم می‌توند از مسیر وابسته به *Sec* و هم به طور مستقل عمل کند. پروتئین های انتقال با مسیر وابسته به*Sec* و مسیر نوع *III* توسط پروتئین های چاپرونی به این سیستم ها تحویل داده می‌شوند.

## مسیر وابسته به *Sec*

مسیر وابسته به*Sec* که‌گاهی به مسیر عمومی ترشح معروف است، به شدت حفاظت شده بوده و در هر سه قلمرو حیات شناسایی شده است. این مسیر پروتئین ها را از عرض غشای پلاسمایی عبور می‌دهد و یا آن‌ها را درون غشا وارد می کند. پروتئین‌هایی که برای عبور از عرض غشا از این مسیر استفاده می‌کنند، به شکل پروتئین‌های پیش ترشحی یا پیش پروتئین سنتز می‌شوند. پیش پروتئین در انتهای آمینی خود دارای پپتید نشانه است که بوسیلهٔ سیستم *Sec* شناسایی می‌شود. به محض سنتز پپتید نشانه پروتئین های ویژه‌ای معروف به پروتئین های چاپرونی ( مثل *SecB* ) به آن متصل می شوند. این اتصال در تاخیر تاخوردگی پروتئین کمک می کند تا پیش پروتئین

هنگام رسیدن به ماشین انتقال Sec آرایش فضایی مورد نیاز برای انتقال را حفظ کرده باشد. شواهدی وجود دارد کـه نشـــــان می‌دهـد جابه جایی پروتئین ها حتی قبل از تکمیل سنتز آن ها توسط ریبوزوم شروع می‌شود. تصور می‌شود که پروتـــــــئین های Sec خاصی ( SecG,SecY وSecE ) ایجاد کانالی در غشا می‌کنند که پیش پـروتئین از میـان آن عبـور می‌کنـد. پروتـئین دیگـری (SecA) بـه پروتئین های SecYEG و کمپلکس پیش پروتئین – SecB متصل می‌شود. SecA با هیدرولیز ATP به عنوان موتوری بـرای جابـه جایی پیش پروتئین ( اما نه پروتئین چاپرونی ) از میان غشای پلاسمایی عمل می‌کند. هنگامی که پیش پروتئین از غشای پلاسمایی عبـور کرد و از چاپرون آزاد شد، آنزیمی به نام سیگنال پپتیداز نشانه را حذف می‌کند. سپس پروتئین حاصل به شکل صحیح خود تا خوردگی پیـدا می‌کند و در صورت نیاز پیوندهای دی سولفیدی در آن تشکیل می‌شوند.

### مسیر Tat(Twin arginine translocation)

در سال‌های اخیر مشخص شد که بیش‌تر باکتری‌ها یک مسیر عمومی ثانویه برای ترشح پروتئین دارند که کاملا از سیستم ترشـحی Sec متفاوت است. این سیستم که Tat نام دارد از شیب پروتون عرض غشا به عنوان نیروی پیش‌برنده عمده در فرایند انتقـال بهـره می‌گیـرد. این مسیر ترشحی(مستقل از Sec)، سیستم Tat نامگذاری شده است، زیرا سوبستراهای پروتئینی که از طریق این مسیر ترشـح می‌شـوند یک ناحیه اختصاصی در پپتید نشانه علامت‌دار ناحیه انتهای آمینی خود دارند که شامل دو زیرواحد آرژنین متوالی و ثابت می‌باشد. بسـیاری از پروتئین‌هایی که توسط سیستم سیستم Tat ترشح می‌شوند در مسیرهای تنفسی و فتوسنتزی نقش دارند و اغلب دارای یـک کوفـاکتور اکسید و احیاء در ساختمان کامل خود می‌باشند که قبل از ترشح، به فاکتور مربوطه متصل شده و تاخوردگی ساختاری آن‌ها کامل می‌شود و سپس پروتئین بالغ به فضای پری پلاسمی صادر می‌گردد.

### ترشح پروتئین در باکتری‌های گرم منفی

امروزه در باکترهای گرم منفی پنج مسیر ترشح پروتئین شناسایی شده است. به یاد داشته باشید که باکترهای گرم منفی دارای یک غشـای خارجی اضافی هستند که پروتئین ها باید از آن عبور کنند. باکتری‌های گرم منفی برای انتقال پروتئین هایی که توسـط مسـیر وابسـته بـه Sec از غشای پلاسمایی عبور کرده‌اند، از مسیرهای ترشحی نوع II و V استفاده می‌کنند. مسـیرهای نـوع I و III بـا پروتئین‌هـایی کـه توسط سیستم وابسته به Sec جابه جا شده‌اند، کاری ندارد، به طوری که به این مسیرها، مسیرهای مستقل ازSec می‌گویند. مسیر نوع IV گاهی با مسیر وابسته به Sec ارتباط پیدا می کند ولی معمولاً به تنهایی عمل‌می کنند.

مسیر ترشح پروتئین نوع II در تعدادی از باکتری هـای بیمـاری زای گیـاهی و جـانوری از جملـه Pseudomonas aeruginosa, Erwiniaacarotovora, Klebsiella pneunmoniae و Vibrio cholerae وجـود دارد. ایـن سیسـتم مسـئول ترشـح پروتئین هایی از جمله آنزیم‌های تجزیه ای مثل پولولاناز، سلولازها، پکتینازها، پروتئازها و لیپازها و همچنین پروتئین‌های دیگری شبیه سم وبا و پروتئین های پیلی است. سیستم‌های نوع II کاملاً پیچیده هستند و ممکن است حدود 12 تا 14 پـروتئین داشـته باشـند کـه اغلـب آن‌ها ظاهراً پروتئین های سرتا سری غشا هستند. گر چه بعضی از اجزای سیستم ترشحی نوع II درون غشای پلاسـمایی قـرار گرفته‌انـد، ولی ظاهراً تنها در جابه جایی پروتئین ها از عرض غشا نقش دارند. در اغلب موارد، ابتدا مسیر وابسته به Sec پروتئین را از عـرض غشـای پلاسمایی عبور می دهد و سپس سیستم ترشحی نوعII فرآیند ترشح را کامل می کند. در باکتری‌های گرم مثبـت و گـرم منفـی، سیسـتم جابه جایی دیگری در غشای پلاسمایی به نام مسیر Tat وجود دارد که می تواند پروتئین ها را از عرض عشا عبور دهد. در بـاکتری هـای گرم منفی این پروتئین ها سپس به سیستم نوع II تحویل داده می‌شـود . تفـاوت اصـلی مسـیر Tat از مسـیر Sec در جابـه جـا کـردن پروتئین‌های تاخورده است.

مسیرهای ترشح پروتئین نوع V از سیستم های ترشحی است که اخیراً کشف شده اند. این سیستم نیز برای عبور پروتئین از عرض غشای پلاسمایی به مسیر Sec وابسته است. با وجود این، بسیاری از پروتئین‌های انتقالی پس از قرار گرفتن در فضای پری پلاسمی کانالی را در غشای خارجی تشکیل می دهند که خودشان را از میان آن عبور می دهند. این پروتئین ها به پروتئین هـای خـود انتقـال معـروف هسـتند. پروتئین های دیگری که به وسیله سیستم ترشحی نوع V ترشح می شوند، برای انتقال از پروتئین کمکی مجزایی استفاده می‌کنند.

مسیر ترشح پروتئین ABC که از نام کاست اتصالی به ATP گرفته شده است، منحصر به پروکاریوت‌ها است( یعنـی، در باکترهـای گـرم مثبت، گرم منفی و آرکی‌ها وجود دارد). گاهی به این مسیر ترشح پروتئین نوع I می‌گویند. در باکترهای گرم منفی بیماری زا، این مسـیر در ترشح سموم ( $\alpha$ – همولیزین) و همچین آنزیم‌های پروتئاز ، لیپاز و بعضی پپتیدهای اختصاصی دخیل است. پروتئین های انتقالی بـا ایـن مسیر، دارای یک سیگنال ترشحی در انتهای ناحیه C هستند که به هدایت پروتئین تازه سنتز شده به ماشین ترشحی نوع I کمک می کند. این سیستم ترشحی عرض غشای پلاسمایی، فضای پری پلاسمی و غشای خارجی را طی می کند. این سیستم‌ها پـروتئین هـا را در یـک مرحله از عرض هر دو غشا جابه جا می کنند و در واقع به مسیر وابسته به Sec نیاز ندارند. باکتری‌هـای گـرم مثبـت بـرای جابـه جـایی پروتئین ها از عرض غشای پلاسمایی نوع تغییر یافته‌ای از سیستم ترشحی نوع I را استفاده می‌کنند. آنـالیز ژنـوم Bacillus Subtilis

وجود 77 انتقال دهندهٔ *ABC* را مشخص کرده است. این بررسی ممکن است نشان دهندهٔ این حقیقت باشد که انتقال دهنـدههای *ABC* علاوه بر پروتئین ها انواع زیادی از مواد دیگر مثل قندها و آمینو اسیدها را انتقال دهند و در بیرون ریختن داروها از داخل سلول نیـز نقـش داشته باشند.

باکترهای گرم منفی بیماری زای متعددی، دارای مسیر ترشح پروتئین نوع *III* هستند. این مسیر نیز نیازی به مسیر وابسته به *Sec* نـدارد. اغلب سیستمهای ترشحی نوع *III* عوامل بیماری زا را مستقیماً به درون سلولهای میزبان مورد حملهٔ ایـن باکتریهـا، اعـم بازدارنـدههای فاگوسیتوز، محرک بازآرایی اسکلت سلولی در سلول میزبان و محرکهای خودکشی سلول میزبان ( آپوپتوزیس) هستند. بـا وجـود ایـن، در بعضی موارد عوامل بمیاری زا فقط به فضای خارج سلولی ریخته می شود. سیستم های نوع *III* پروتئین های دیگری را نیـز از جملـه (1) بعضی پروتئینهای سازندهٔ سیستم، (2) پروتئینهای تنظیم کنندهٔ فرآیند ترشح و (3) پروتئین های کمـک کننـده بـه ورود پـروتئین هـای ترشحی به سلول هدف، انتقال می دهند. سیستم های نوع *III* از نظر ساختاری پیچیده هستند و اغلب به سـرنگ شـباهت دارنـد. بخـش سوزن مانند و باریک آن از سطح سلول خارج شده است و به یک پایهٔ لولهای شکل هر دو غشای خارجی و پلاسمایی اتصـال دارد و شـبیه جسم پایه ای تاژه به نظر می رسند. به نظر میرسد که پروتئین ها از میان کانال جابه جایی عبور کنند. نمونـههای مهـم از بـاکتری هـای دارای سیستم نوع *III* عبارت انـد از: *Yersimia , Salmonella Pseudomonas , E. coli, Bordetella, Shigella* و *Erwinia*.

مسیرهای ترشح پروتئین نوع *IV* منحصر به باکترهایی است که در ترشح پروتئین و همچنین انتقال *DNA* از باکتری دهنده به گیرنده در طی هم یوغی استفاده میشوند. سیستم های نوع *IV* از پروتئین های متنوع بسیاری تشکیل شده اند و شبیه سیستم های نوع *III* ساختار سرنگ مانند دارند.

1. پروتئین هایی که از طریق تیپ *II* و *V* خارج می شوند از لحاظ مکانیسم عبور مشابه هستند ولی از لحاظ چگونگی عبور متفاوتند.
2. پروتئین های عبوری از طریق تیپ *II* با واسطه یک کمپلکس چندپروتئینی انتقال می یابند. این مسیر، مسـیر اول بـرای ترشـح آنـزیم های تجزیه کننده خارج سلولی در باکتری های گرم منفی است.از پروتئین های ترشحی توسط تیپ *II* مـی تـوان الاسـتاز، فسـفولیپاز *C*، اگزوتوکسین *A* سودوموناس و پولولوناز کلبسیلا اکسی توکا را نام برد.
3. پروتئین های ترشحی توسط تیپ *I* و *III* به جای سیگنال پپتید دارای توالی در انتهای کربوکسیل خود هسـتند کـه تقریبـا شـامل 60 اسیدآمینه بوده و اطلاعات ترشحی پروتئین در این ناحیه قرار دارد.
4. انواع پروتئین های ترشحی توسط تیپ *V* شامل: *IgA* پروتئاز گونوکوک و سیتوتوکسین واکوئل زای هلیکوباکتر پیلوری هستند.
5. تیپ *III* شبیه به مکانیسم سنتز تاژک بوده و پروتئین های ترشحی یرسینیا (*yops*) را ترشح می کند.
6. مسیر ترشحی تیپ *IV* مسیر وابسته به تماس سلولی می باشد و پروتئین های ترشحی توسط این مسیر عبارتند از: فاکتور فعال کننده و القاکننده *IL-8* هلیکوباکتر پیلوری و پرتوسین بوردتلا.
7. بیشترین مسیر مورد استفاده باکتری ها جهت ترشح، مسیر *II* و بعد هم مسیر *III* می باشد( مسیر *II* مسـیر عمـومی ترشـحی در گـرم منفی هاست)
8. مسیر *I* علاوه بر گرم منفی ها در گرم مثبت ها هم دیده می شود.
9. پروتئینهای ترشحی توسط تیپ *V* به واسطه یک توالی در انتهای کربوکسیل خود دارای قدرت خود انتقالی هستند.

## اجزای سلولی خارج از دیوارهٔ سلولی

پروکاریوت ها در خارج از دیوارهٔ سلولی دارای انواعی از ساختارها هستند که می توانند در حفاظت ، اتصال به سطوح و حرکت سلول نقـش داشته باشند. تعدادی از این ساختارها در این بخش بحث میشوند.

### کپسولها، لایههای مخاطی و لایههای *S*

بعضی پروکاریوت ها دارای لایهای از مواد روی سطح خارجی دیوارهٔ سلولی هستند . این لایه بسته به مشخصات آن دارای اسامی مختلفی است. اگر لایه به خوبی سازماندهی شده باشد و به سهولت از سطح آن کنده نشود، به آن کپسول می گویند. ولی وقتی کـه ایـن لایـه بـه صورت حاشیهٔ منتشر شدهای از مواد سازمان نیافته که به سهولت قابل کنده شدن باشد، به آن لایهٔ مخاطی گفته میشود. هنگامی که این لایه از شبکهای از پلی ساکاریدهای منتشره از سطح سلول تشکیل شده باشد به آن گلیکوکالیکس میگویند. و از آن جایی که کپسول ها و لایههای مخاطی معمولاً از پلی ساکارید تشکیل شدهاند، میتوان از اصطلاح گلیکوکالیکس برای هر دوی آنها استفاده کرد. با وجود ایـن،

بعضی لایه‌های مخاطی و کپسول ها از مواد دیگری ساخته شده‌اند. مثلاً *Bacillus anthracis* دارای کپسول پروتئینی از جنس پلی *D*- گلوتامیک اسید است. کپسول ها به وضوح در میکروسکوپ نوری با رنگ آمیزی مفنی یا رنگ آمیزی اختصاصی کپسول قابل مشاهده هستند. کپسول ها را با میکروسکوپ الکترونی نیز می توان مطالعه کرد.

اگر چه کپسول ها برای رشد و تولید مثل میکروارگانیسم ها در محیطهای آزمایشگاهی مورد نیاز نیستند، ولی هنگام رشد پروکاریوت‌ها در زیستگاه‌های طبیعی آن‌ها مزایای بسیاری را به آن ها می بخشد. کپسول ها به باکتری های بیماری زا کمک می کنند که در مقابل فاگوسیتوز سلول ها فاگوسیت کنندهٔ میزبان مقاومت کنند. یک مثال بارز برای آن مقاومت در *Streptococcus Pneumoniae* است. شکل فاقد کپسول باکتری به سهولت تخریب می شود و نمی تواند ایجاد بیماری کند در حالی که انواع کپسول دار به سرعت موش ها را می کشند. کپسول‌ها مقادیر زیادی آب دارند و می‌توانند باکتری را در مقابل خشکی محافظت کنند. آن ها همچنین مانع ورود ویروس ها و اغلب مواد سمی آب گریز مثل دترجنت ها می‌شوند. گلیکوکالیکس در اتصال به سطوح جامد و از جمله سطوح بافتی میزبان گیاهی و جانوری نیز کمک می کنند. باکتری های سر خورنده اغلب مواد مخاطی تولید می‌کنند که در مواردی نقش تسهیل حرکتی را به آن نسبت می‌دهند.

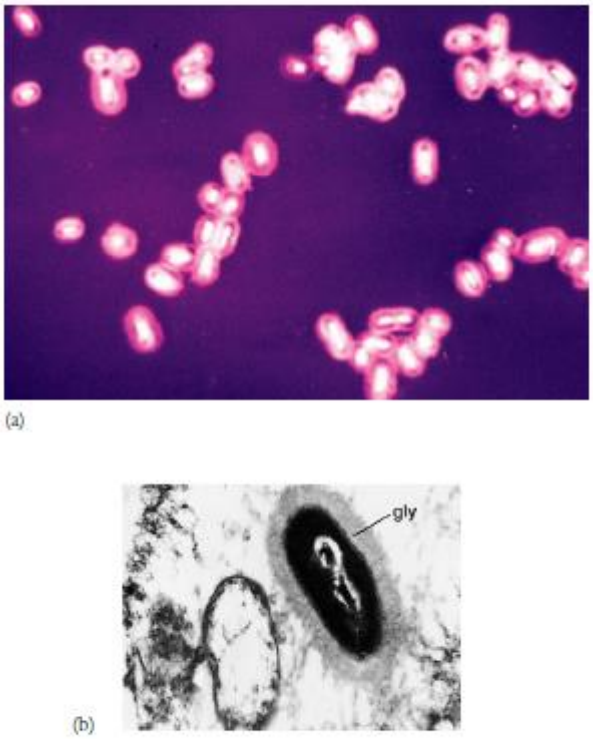



**Figure 3.27 Bacterial Capsules.** (a) *Klebsiella pneumoniae* with its capsule stained for observation in the light microscope (×1,500). (b) *Bacteroides* glycocalyx (gly), TEM (×71,250).

کپسول های باکتریایی . ( الف) باکتری *Klebsiella pneunoniae* با کپسول آن که برای مشاهده در میکروسکوپ نوری رنگ آمیزی شده است.( ب) گلیکوکالیکس *Bacteroides*

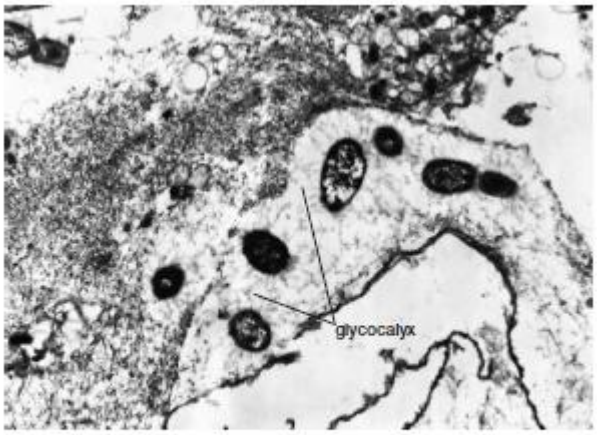



**Figure 3.28 Bacterial Glycocalyx.** Bacteria connected to each other and to the intestinal wall, by their glycocalyxes, the extensive networks of fibers extending from the cells (×17,500).

گلیکوکالیکس باکتریایی. باکتری ها به وسیلهٔ گلیکوکالیکس خود که شبکهٔ گسترده ای از رشته‌های خارج شده از سلول ها هستند به یکدیگر و به دیوارهٔ روده متصل می‌شود (*X* 17500).

بسیاری از پروکاریوت ها لایهٔ ساختاری منظمی به نام لایه *S* روی سطح خود دارند. در باکتری‌ها، لایهٔ *S* روی دیوارهٔ سلولی قرار دارد در حالی که در آرکی ها ممکن است لایه *S* بیشتر چینشی شبیه کاشی ها دارد و از پروتئین یا گیلکوپروتئین تشکیل شده است. در باکتری‌های گرم منفی لایهٔ *S* مستقیماً به غشای خارجی می‌چسبد؛ در حالی که در باکتری‌هایی گرم مثبت این لایه در ســـــــــطح پپتیدوگلیکان قرار دارد. وجود این لایه احتمالاً سلول را در مقابل تغییرات یونی و *pH*، استرس اسمزی، آنزیم ها یا باکتری‌های شکارچی *Bdellovibrio* حفاظت می کند. لایه *S* همچنین در حفظ شکل و استحکام پوشش بعضی سلول ها کمک می کند. این لایه می‌تواند سبب تقویت اتصال سلول به سطوح شود. سرانجام به نظر می‌رسد که لایه *S* در حفاظت بعضی باکترهای بیماری زا از دفاع میزبان و در نتیجه در بیماری زایی آن ها نقش داشته باشد.

**نکته:**

با انجام بیش از سه دهه تحقیق مشخص گردید یکی از متداول‌ترین ساختارهای سطحی موجود در اکثر آرکی‌ها و باکتری‌ها، یک ساختار کریستالی، منظم، تک لایه‌ای است که از زیرواحدهای مشابه پروتئینی یا گلیکوپروتئینی به وجود آمده است، تاکنون اسامی مختلفی برای این ساختار پیشنهاد شده است، از جمله: ساختار منظم، پروتئین فراکریستالی، ساختار سطحی کریستالی باکتریایی و ... .

امروزه این ساختار، لایه سطحی (*S-layer*) نامیده می‌شود.

*S-layer*، خارجی‌ترین پروتئین دیواره سلولی محسوب می‌شود.

به طور کلی پروتئین‌های موجود، در یک سلول را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد:

1. پروتئین‌های سطحی
2. پروتئین‌های داخلی

پروتئین‌های سطحی نسبت به عوامل محیطی بسیار پایدار شده‌اند، در صورتی که پروتئین‌های داخلی نسبت به عوامل خارجی حساس می‌باشند و توسط پوشش سلولی محافظت می‌شوند.

*S-layer* پروتئینی بسیار مقاوم در برابر تغییرات فیزیکی و شیمیایی است. به همین دلیل است که *S-layer* در انتخاب طبیعی ارگانیسم تحت شرایط متفاوت محیطی، نقش مهمی ایفا می‌کند.

به زیرواحدهای تشکیل دهنده لایه *S* مورفولوژیکی گفته می‌شود. زیرواحدهای سازنده لایه *S* از یک نوع پروتئین به وجود می‌آیند، اما مشخص شده است که در معدودی از باکتری‌ها لایه *S* از دو نوع زیرواحد به وجود آمده است. از جمله باسیلوس آنتراسیس و کلستریدیوم دیفیسل. همچنین در تعدادی از باکتری‌ها واحد لایه *S* چند لایه می‌باشد: نظیر باسیلوس آنتراسیس و بروی باسیلوس برویس.

سابقا اینگونه بیان می‌شد که لایه *S* از طریق پپتیدوگلیکان با سلول ارتباط برقرار می‌کند. اما مطالعات اخیر نشان داده است لایه *S* از طریق *SCWPs* (*Secondary cell wall polymers*)، به سلول متصل است(پلی‌مرهای ثانویه دیواره سلولی عبارت‌اند از تیکوئیک اسید، تیکورونیک اسید، لیپوتیکوئیک اسید و لیپوگلیکان. اتصال *SCWPs* به لایه پپتیدوگلیکان از نوع کووالان می‌باشد. در تقسیم‌بندی جدیدتر، *SCWPs* را به دو دسته تقسیم می‌کنند:

الف) پلی‌مرهای ثانویه دیواره سلولی کلاسیک
ب) پلی‌مرهای ثانویه دیواره سلولی غیرکلاسیک
به پلی‌مرهای ثانویه کلاسیک پلی‌مرهای تیپیک هم گفته می‌شود. پلی‌مرهای تیپیک درواقع همان تیکوئیک اسید و تیکورونیک اسید می‌باشند).
اسیدهای آمینه موجود در لایه $S$، عمدتا از نوع اسیدی (اسید آسپارتیک و اسید گلوتامیک) و آب‌گریز هستند و در میان سایر اسیدهای موجود در لایه $S$ لایزین بیش‌ترین مقدار و آرژنین، متیونین و هیستیدین کم‌ترین مقدار را به خود اختصاص داده‌اند، سیستئین به ندرت در ساختار لایه $S$ مشاهده می‌شود.

## پیلی ها و فیمبریه ها

بسیاری از پروکاریوت ها زوائد کوتاه، ظریف و مومانندی دارند که نازک تر از تاژه ها هستند. این زوائد را معمولاً فیمبریه ( مفرد آن فیمبریا) می نامند. اگر چه بسیاری از افراد عبارت های فیمبریه و پیلی را به جای یکدیگر استفاده می کنند ولی باید بین فیمبریه و پیلی جنسی تفاوت قائل شد. یک سلول ممکن است با بیش از 1000 فیمبریه پوشیده شده باشد، اما به خاطر اندازهٔ کوچک آن‌ها فقط با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده هستند. فیمبریه‌ها لوله های استوانه‌ای هستند که از زیر واحدهای پروتئینی با آرایش مارپیچی تشکیل شده‌اند و قطری حدود 3 تا 10 $nm$ و طولی چند میکرومتری دارند. حداقل بعضی از فیمبریه ها سبب چسبیدن باکترها به سطوح جامد مثل صخره های داخل جریان آب و بافت‌های میزبانی می شوند.

اهمیت فیمبریه‌ها تنها به نقش اتصال دهندگی آن‌ها محدود نمی‌شود. فیمبریه نوع $IV$ در یک یا هر دو قطب باکتری‌ها وجود دارند. آن ها می‌توانند در اتصال باکتری به اشیا کمک کنند و برای حرکت چرخشی در بعضی باکتری‌ها مثل *Neisseria gonorrhoeae, P. aeruginosa* و سویه‌هایی از $E.\ coli$ نیز مورد نیاز هستند . این نوع حرکت ممکن است به صورت حرکات کوتاه نامنظم یا حرکاتی به طول چند میکرومتر باشند. به طور معمول در سطوح با رعایت رطوبت زیاد دیده می‌شوند . شواهدی از انقباض فعال این فیمبریه ها در حرکت باکتری‌های مذکور وجود دارد. فیمبریه نوع $IV$ همچنین در حرکت سر خوردن میکسو باکتری ها نقش دارند. میکسو باکتری‌ها همچنین به علت داشتن چرخهٔ زندگی پیچیده و از جمله تشکیل اجسام میوه ای جالب توجه هستند.

بسیاری از باکتری‌ها دارای یک تا ده پیلی جنسی ( مفرد آن پیلوس ) هستند. پیلی‌های جنسی ساختارهای مومانندی هستند که در موارد زیر با فیمبریه ها اختلاف دارند. پیلی‌ها اغلب بزرگ تر از فیمبریه هستند ( قطری حدود 9 تا 10 $nm$ ) . ژن های پیلی ها روی پلاسمیدهای هم یوغی قرار دارند و برای هم یوغی ضروری هستند. بعضی از ویروس‌های باکتریایی در شروع چرخهٔ تولید مثلی خود به طور اختصاصی به گیرنده های روی پیلی های جنسی متصل می‌شوند.

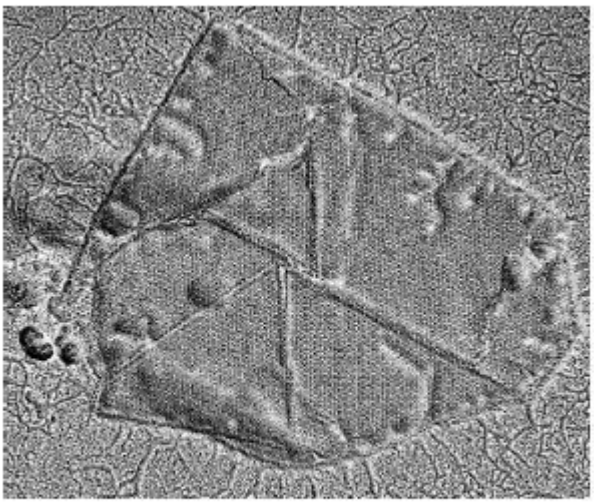


**Figure 3.29 The S-Layer.** An electron micrograph of the S-layer of *Deinococcus radiodurans* after shadowing.

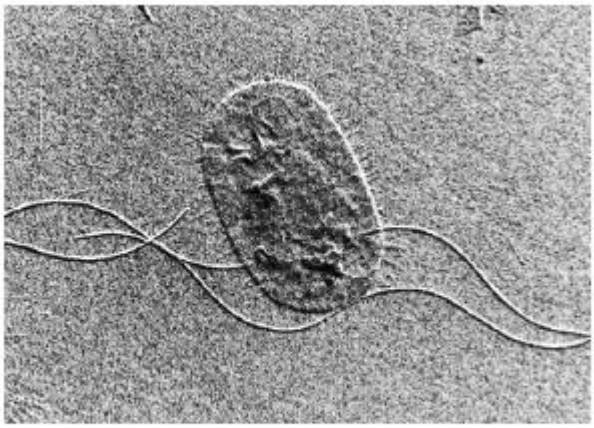


**Figure 3.30 Flagella and Fimbriae.** The long flagella and the numerous shorter fimbriae are very evident in this electron micrograph of *Proteus vulgaris* (×39,000).

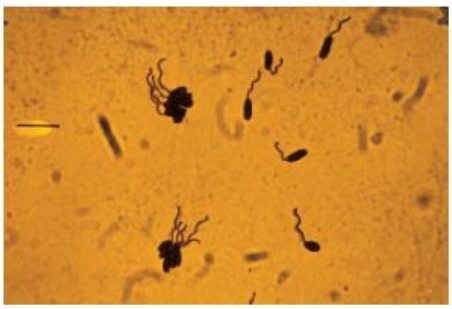
تاژه ها و فیمبریه‌ها. در این تصویر میکروسکوپ الکترونی از باکتری *proteus vulgaris* ( 39000 × ) تاژه های بلند و فیمبریه های متعدد کوتاه به وضوح قابل مشاهده هستند.

## تاژه ها و حرکت

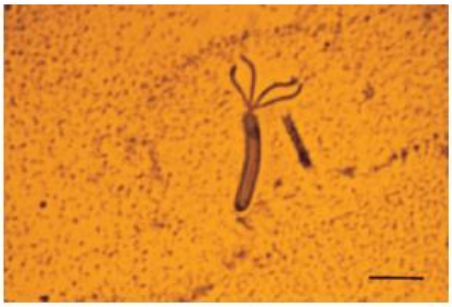
اغلب پروکاریوت های متحرک با استفاده از زوائد حرکتی نخ مانندی به نام تاژه مفرد آن (فلاژلوم ) که از غشای پلاسمایی و دیوارهٔ سلولی به بیرون کشیده شده‌اند، حرکت می‌کنند. تاژه‌های باکتریایی به خوبی مطالعه شده‌اند و بحث اصلی این بخش را تشکیل می دهند.
تاژه های باکتریایی ساختارهای سخت استوانه‌ای با قطر $nm$ 20 و طول 15 تا $\mu m$ 20 هستند. تاژه‌ها بسیار نازک تر از آن هستند که بتوان آن ها را مستقیماً میکروسکوپ زمینه روشن مشاهده کرد؛ اما باید با روش های خاصی که برای افزایش ضخامت آن ها طراحی شده اند، رنگ آمیزی شوند. ساختار دقیق‌تر تاژه را تنها می‌توان با میکروسکوپ الکترونی مشاهده کرد.
گونه های باکتریایی اغلب از نظر الگوی توزیع تاژه ها روی سلول اختلاف دارند و این الگو در شناسایی باکتری‌ها مفید هستند.باکتری های مونوتریکوس ( تریکوس به معنی مو) دارای یک تاژه هستند؛ اگر این تاژه در انتهای باکتری قرار گرفته باشد به آن تاژه قطبی می‌گویند. باکتری های آمفی تریکوس ( آمفی به معنی هر دو طرف ) در هر انتها یک تاژه دارند. در مقابل، باکتری‌های لوفوتریکوس ( لوفو به معنی دسته ) دارای یک دسته تاژه در یک یا هر دو انتها هستند. در باکتری‌های پری تریکوس ( پری به معنی اطراف ) تاژه ها به طور یکنواخت در سطح سلول پخش شده‌اند.

## ریز ساختارها تاژه

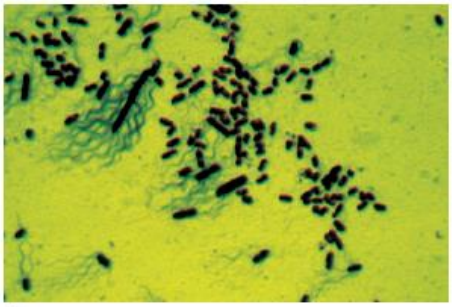
مطالعات انجام شده با میکروسکوپ الکترونی گذاره وجود سه بخش را در تاژهٔ باکتری نشان می دهد. (1) بلندترین و مشهودترین بخش، رشتهٔ تاژه‌ای است که از سطح سلول به بیرون کشیده شده است، (2) جسم پایه‌ای که در سلول فرو رفته است و (3) یک قطعهٔ خمیده یا قلاب تاژه‌ای که رشتهٔ تاژه را به جسم پایه‌ای متصل می‌کند و به عنوان رابطی انعطاف پذیر عمل می‌کند. بخش رشتهٔ ای، استوانهٔ سخت توخالی است که از زیر واحدهای پروتئین فلاژلین ساخته شده است . فلاژلین‌ها بسته به نوع باکتری وزن مولکولی بین 30000 تا 60000 دالتون دارند. انتهای رشتهٔ تاژه به یک پروتئین کلاهک ختم شده است. بعضی باکتری های در اطراف تاژه های خود دارای غلافی هستند. برای نمونه این ساختار غشایی در دور رشتهٔ تاژه در *Bdellovibrio* دیده می‌شود. در *Vibrio cholerae* غلاف رشتهٔ تاژه از جنس لیپوپلی ساکارید است. بخش قلاب و جسم پایه‌ای کاملا متفاوت از بخش رشته ای است . قلاب کمی پهن تر از رشتهٔ تاژه است و از زیر واحدهای پروتئینی متفاوتی ساخته شده است . جسم پایه‌ای پیچیده‌ترین بخش تاژه است. در *E.coli* و اغلب باکتری‌های گرم منفی جسم پایه‌ای تاژه از چهار حلقهٔ متصل به یک میلهٔ مرکزی تشکیل شده است. حلقه های بیرونی $L$ و $p$ به ترتیب با لایه‌های لیپوپلی ساکارید و پپتیدوگلیکان همراه هستند. حلقهٔ داخلی $M$ به غشای پلاسمایی اتصال دارد و باکتری‌های گرم مثبت تنها دارای دو حلقه ( حلقهٔ داخلی متصل به غشای پلاسمایی و حلقهٔ بیرونی که احتمالاً به پپتیدو گلیکان اتصال دارد) هستند.



(a)



(b)



(c)

**Figure 3.31 Flagellar Distribution.** Examples of various patterns of flagellation as seen in the light microscope. (**a**) Monotrichous polar (*Pseudomonas*). (**b**) Lophotrichous (*Spirillum*). (**c**) Peritrichous (*Proteus vulgaris*, ×600). Bars = 5 µm.

آرایش تاژه ای. مثال‌هایی از الگوهای مختلف تاژه ای که در میکروسکوپ نوری مشاهده می‌شود . ( الف) مونوتریکوس قطبی *(Pseudomonas)* . ( ب) لوفوتریکوس *Spirillum0)* . ( ج) پری تریکوس ( 600 × *proteus vulgaris* )

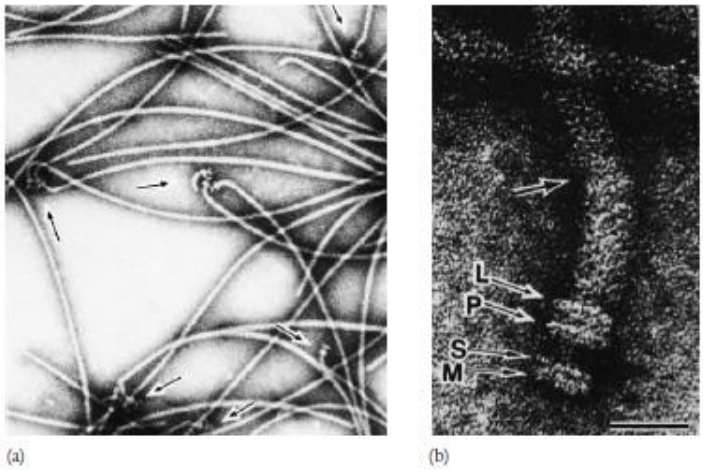



**Figure 3.32 The Ultrastructure of Gram-Negative Flagella.** (a) Negatively stained flagella from *Escherichia coli* (×66,000). Arrows indicate the location of curved hooks and basal bodies. (b) An enlarged view of the basal body of an *E. coli* flagellum (×485,000). All four rings (L, P, S, and M) can be clearly seen. The uppermost arrow is at the junction of the hook and filament. Bar = 30 nm.

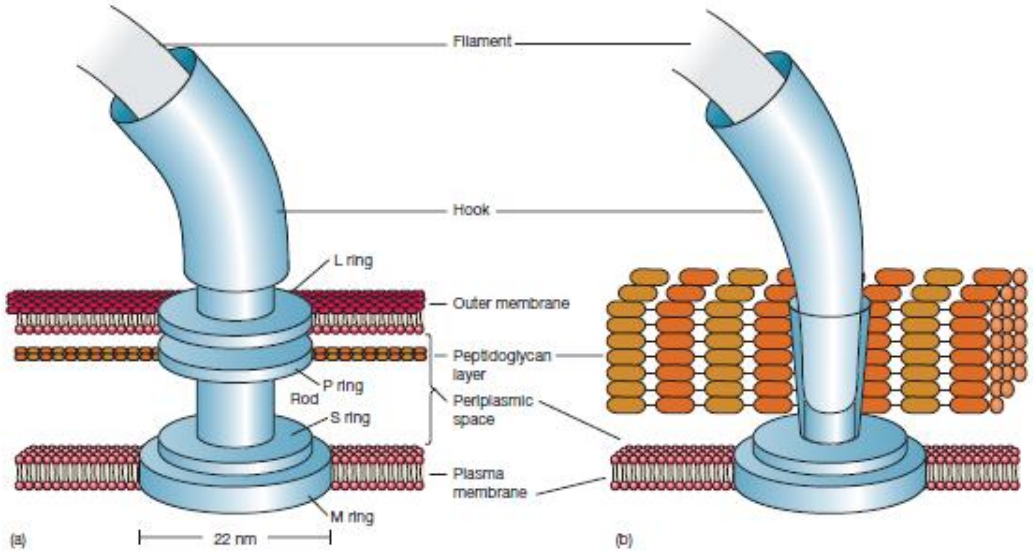



**Figure 3.33 The Ultrastructure of Bacterial Flagella.** Flagellar basal bodies and hooks in (a) gram-negative and (b) gram-positive bacteria.

ریز ساختار تاژه های باکتریایی. اجسام پایه‌ای و قلاب ها در (الف) باکتری ها گرم منفی و ( ب ) باکتری‌ها گرم مثبت ( ج ). رنگ آمیزی منفی تاژه های $E.coli$ ( 66000 × ). ( د ) تصویر بزرگ شده‌ای از جسم پایه‌ای یک تاژه$E.coli$ ( 485000×). هر چهار حلقه ( $S,p,L$ و$M$ ) به وضوح قابل مشاهده هستند. بالاترین فلش روی شکل ، محل اتصال قلاب به رشته را نشان می دهد.

## ساخت تاژه

ساخت تاژه باکتری‌ها فرآیند پیچیده‌ای است که حداقل 20 تا 30 ژن در آن دخیل هستند. علاوه بر ژن فلاژلین، بیش از 10 ژن پروتئین های قلاب و جسم پایه‌ای را رمز می‌کنند؛ ژن های دیگری در کنترل ساخت یا عملکرد تاژه مربوط هستند. این که چگونه سلول موقعیت دقیق تاژه را تنظیم یا تعیین می کند، معلوم نشده است.

برای مطالعهٔ بازسازی رشتهٔ تاژه می توان از سلول‌هایی که تاژهٔ خود را از دست داده‌اندهٔ استفاده کرد . انتقال بسیاری از اجزای تاژه ای با دستگاهی در جسم پایه‌ای صورت می پذیرد که نوع خاصی از سیستم ترشح پروتئین $III$ است. به نظر می‌رسد که زیر واحدهای فلاژلینی از میان بخش داخلی تو خالی رشتهٔ تاژه‌ای به بیرون منتقل می‌شوند. با رسیدن این زیر واحدها به نوک رشته، زیر واحدها به خودی خود و به طور منظم در زیر کلاهک مخصوص رشته چیده می شوند، لذا رشته به جای پایه از نوک رشد می کند. ساخت رشته، مثال جالبی از خود چیدمانی است . بسیاری از ساختارها به طور خود به خودی، از طریق ارتباط بخش‌هایی از اجزای تشکیل دهندهٔ خود و بدون کمک آنزیم های خاص یا فاکتورهای دیگر ساخته می‌شوند. در مورد تاژه، اطلاعات مورد نیاز برای تشکیل رشته در خود ساختار زیر واحد فلاژلین وجود دارد.

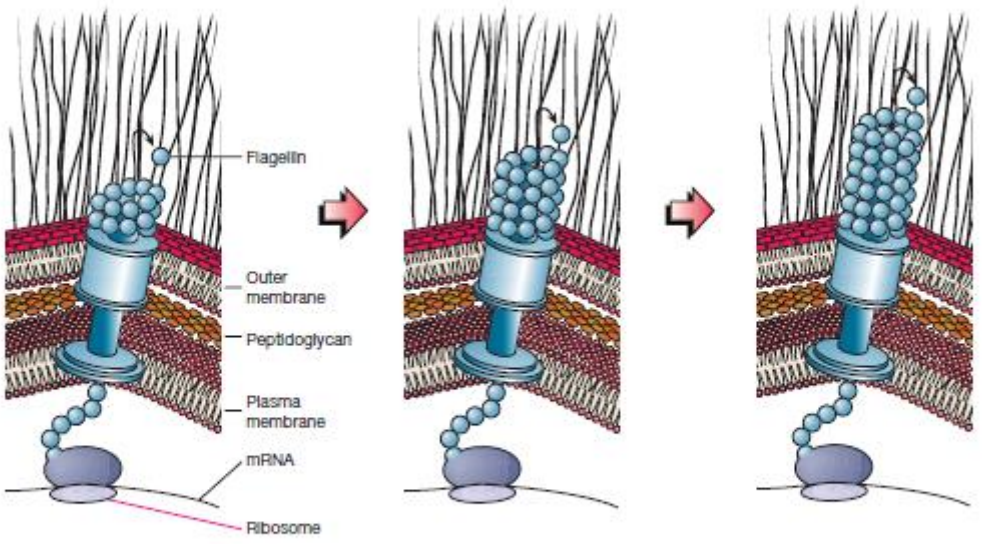



**Figure 3.34 Growth of Flagellar Filaments.** Flagellin subunits travel through the flagellar core and attach to the growing tip.

**رشد رشته های تاژه‌ای .** زیر واحدهای فلاژلین از میان بخش مرکزی تاژه عبور می‌کنند و.به نوک در حال رشد آن متصل می‌شوند. اتصال فلاژلین ها بـه وسـیلهٔ پروتئین کلاهک تازه هدایت می‌شود.

## مکانیسم حرکت تاژه‌ای

تاژه‌های پروکاریوتی در نحوهٔ عمل با تاژه های یوکاریوتی تفاوت دارند. رشتهٔ تاژه به شکل مارپیچ غیـر قابـل انعطـافی اسـت و سـلول بـا چرخش این مارپیچ حرکت می‌کند. مدارک زیادی نشان می دهند که علمکرد درست شبیه به پروانهٔ قایق است. باکتری‌های جهـش یافتـه ای که دارای تاژه های غیر مارپیچ صاف یا بخش قلابی بلند غیر طبیعی هستند. قادر به حرکت نیستند. هنگامی کـه باکتری‌هـا بـا کمـک آنتی بادی های ضد پروتئین های رشته‌ای یا قلاب تاژه ، به لام شیشه‌ای چسبانده می‌شوند، باکتری با سرعت حول تـاژه تابـت خـود مـی چرخد. اگر دانه های پلی استر– لاتکس به تاژه‌ها چسبانده شود، دانه‌ها به واسطهٔ چرخش تاژه حول محور تاژه می‌چرخند. سرعت چـرخش موتور تاژهٔ بسیار بالاست. موتور تاژه *E.coli*، 270 بار در هر ثانیه می چرخد؛ و در *Vibrio alginolyticus* میانگین سرعت چرخش 1100 *rps* است.

جهت چرخش تاژه نحوهٔ حرکت باکتری را تعیین می‌کند. تاژه‌های مونو تریکوس قطبی بـا چـرخش در جهـت عکـس حرکـت عقربـه‌های ساعت سبب حرکت رو به جلو و طبیعی باکتری می‌شود ( وقتی که از بیرون سلول به تاژه نگاه می‌شود )؛ و با چرخش تاژه، سـلول نیـز بـه آرامی در جهت عقربه های ساعت می‌چرخد. چرخش رشتهٔ مارپیچی تاژهٔ، سلول را به جلو هل می‌دهد و خـود تـاژه بـه دنبـال آن کشـیده می‌شود. باکتری مونوتریکوس با برعکس شدن جهت چرخش تاژه متوقف می‌شود و به طـور تصـادفی غـل می‌خـورد. باکتری‌هـای دارای تاژه‌های پری تریکوس به طور مشابه عمل می‌کند. در این باکتری ها برای حرکت به جلو تاژه‌ها در خلاف جهت عقربه های سـاعت مـی چرخند. برای این منظور، تاژه‌ها از محل قلاب خمیده می‌شوند تا با تشکیل دسته‌ای از تاژه‌های چرخان سلول را بـه جلـو برانـند. چـرخش تاژه‌ها در جهت عقربه‌های ساعت سبب از بین رفتن شکل دسته ای تاژه ها شده و سلول می‌غلتد.

از آن جایی که باکتری‌ها از طریق چرخش تاژه‌های غیر قابل انعطاف خود حرکت می‌کنند؛ باید نوعی موتور در پایهٔ تاژه وجود داشته باشـد. میله‌ای از قلاب تاژه خارج شده و به حلقهٔ $M$ ختم می شود؛ حلقه $M$ می‌تواند به طور آزادانه درون غشای پلاسمایی بچرخد. تصور می‌شود که حلقهٔ $S$ به دیوارهٔ سلولی باکترهای گرم مثبت چسبیده است و دارای چرخش نیست. در باکتری‌هـای گـرم منفـی حلقـه‌های $p$ و $L$ بـه عنوان یاتاقان‌هایی برای چرخش بخش میله‌ای تاژه عمل می‌کنند. مدارکی دال بر این مساله وجود دارد که جسم پایه‌ای، ساختار غیر فعـال دارد و درون یک کمپلکس پروتئین فرو روفته در غشا ( شبیه به روتور یک موتور الکتریکی که در مرکز حلقه ای از آن رباهای مغناطیسـی می‌چرخد ) می چرخد ( استاتور).

مکانیسم دقیق ایجاد چرخش در جسم پایه‌ای به طور کامل روشن نیست. به نظر می رسد که بخش روتور تاژه از یـک میلـه، حلقـهٔ $M$ و حلقهٔ $C$ متصل به سطح سیتو پلاسمی جسم پایه‌ای تشکیل شده باشد. این دو حلقه از چند پروتئین ساخته شده است ؛ پروتئین $FLiG$ در ایجاد چرخش تاژه‌ای اهمیت ویژه‌ای دارد. دو پروتئین مهم دیگر در بخش استاتور، $MotA$ و $Motb$ هستند. این پروتئین ها ایجـاد یـک کانال پروتونی در عرض غشای پلاسمایی می‌کنند؛ همچنین $MotB$ سبب قلاب شدن کمپلکس $Mot$ بـه پپتیـدوگلیکان دیـوارهٔ سـلولی

می‌شود. شواهدی نیز از میانکنش مستقیم $MotA$ و$FLiG$ در طی چرخش تاژه وجود دارد. چرخش در تاژهٔ باکتری‌ها برعکس تاژه‌های یوکاریوتی که با مصرف مستقیم $ATP$ همراه است، به وسیلهٔ شیب پروتـــــون یا سدیم صورت می گیرد.

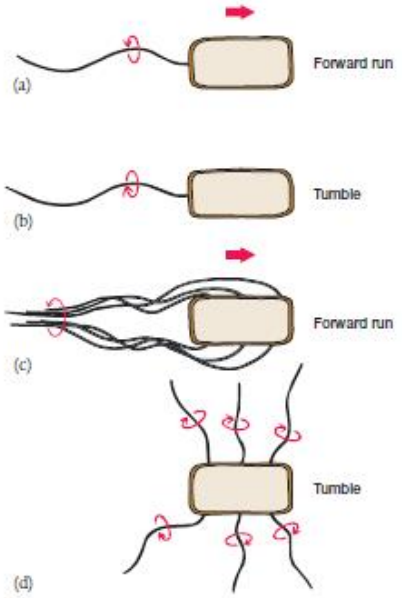



**Figure 3.35 Flagellar Motility.** The relationship of flagellar rotation to bacterial movement. Parts (**a**) and (**b**) describe the motion of monotrichous, polar bacteria. Parts (**c**) and (**d**) illustrate the movements of peritrichous organisms.

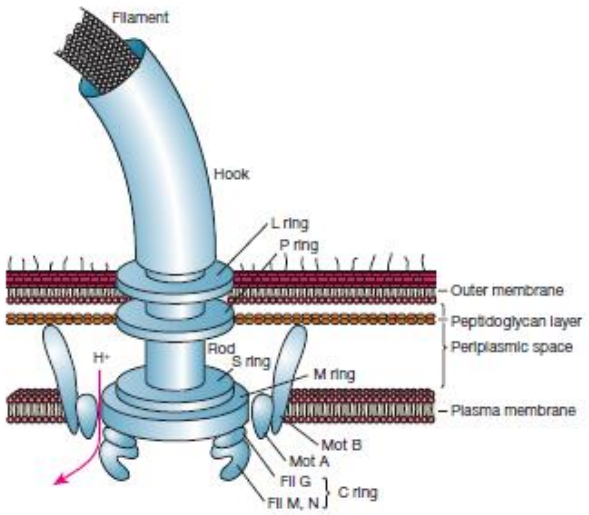



**Figure 3.36 Mechanism of Flagellar Movement.** This diagram of a gram-negative flagellum shows some of the more important components and the flow of protons that drives rotation. Five of the many flagellar proteins are labeled (Mot A, Mot B, Fli G, Fli M, Fli N).

تاژه ابزار حرکتی بسیار موثری است . از نظر باکتری حرکت یک کار محسوب می‌شود. زیرا محیط آبـی اطـراف بـاکتری از نظـر غلظـت و چسبندگی شبیه ملاس به نظر می‌رسد . باکتری باید با تاژه‌های مارپیچی خود آب را بشکافد و با توقف فعالیت تاژه ، تقریبـاً همـان لحظـه حرکت باکتری نیز متوقف می‌شود . علی رغم وجود چین مقاومت محیطی در مقابل حرکت باکتری، باکتری‌ها می‌توانند با سرعتی حدود20 تا $90\mu m/s$ حرکت کنند. این سرعت معادل با طی کردن مسافتی حدود 2 تا بیش از 100 برابر طول خود سلول در هر ثانیه است. حـال آن که دوندهٔ بسیار سریعی با قد 180 سانتی متر، تنها می‌تواند حدود 5 برابر طول قدر خود را در هر ثانیه طی می کند.

باکتری‌ها می توانند با مکانیسم‌هایی غیر از چرخش تاژه‌ای حرکت کنند. اسپیروکت ها باکتری‌های مارپیچی شکلی هست که از میان مـواد غلیظی مثل مخاط یا گل و لای به وسیلهٔ حرکت خمشی و چرخشی می توانند حرکت کنند. این نوع حرکت به وسیله رشتهٔ محوری ساخته شده از تاژه‌های پری پلاسمی، صورت می گیرد. و حرکت باکتری مارپیچی *Spiroplasma* با تشکیل گره‌هایی در جسم باکتری انجـام می‌شود که این گره‌ها در جسم باکتری انجام می‌شود که این گره ها در طول باکتری حرکت می‌کند. در بسـیاری از باکتری‌هـا نـوع بسـیار متفاوتی از حرکت به نام حرکت سر خوردن وجود دارد: از جمله این باکتری‌ها، سـیانوباکتری‌ها، میکسـوباکتری‌ها، سـایتوفاگاها و بعضـی از مایکوپلاسماها هستند. اگر چه در حرکت سر خوردن ساختارهای خارجی قابل مشاه ای وجود ندارد، این مکانیسم امکان حرکتی بـا سـرعت حدود$3\mu\ m/s$ در محیط جامد را مسیر می سازد.

## شیمیو تاکسی

حرکات باکتری‌ها همیشه بی هدف نیست، بلکه به واسطهٔ مواد مغذی مثل قندها و آمینواسیدها جذب می‌شوند و بـه وسـیلهٔ مـواد مضـر و تولیدات زائد باکتریای دفع می گردند. همچنین باکتری‌ها می‌توانند به شرایط محیطی دیگـر مثـل دمـا ( ترموتاکسـی)، نـور ( فتوتاکسـی)، اکسیژن (آئرو تاکسی)، فشار اسمزی ( اسموتاکسی) و گرانش پاسخ دهند. حرکت به طرف جاذب های شیمیایی و دور شدن از دافع هـا بـه شیمیو تاکسی معروف است. داشتن چنین رفتاری از مزیت‌های روشن باکتری ها است.

شیمیوتاکسی را می‌توان با قرار دادن لولهٔ موئینهٔ پر شده از مواد جاذب درون سوسپانسیون باکتری و مشاهدهٔ حرکت آن‌ها در شیب غلظتـی حاصل نشان داد. با انتشار مادهٔ جاذب از ته لولهٔ موئینه، باکتری‌ها در آن جمع می‌شوند و به طرف بالا شـنا مـی کننـد. تعـداد باکتری‌هـای درون لولهٔ موئینه در یک بازهٔ زمانی کوتاه نشان دهندهٔ قدرت جاذبهٔ ماده و میزان شیمیوتاکسی آن است. بـرای نشـان دادن شیمیوتاکسـی مثبت یا منفی نیز می‌توان از کشت در پلیت استفاده کرد. اگر باکتری در مرکز یک پلیت با آگار نیمه جامد حاوی مادهٔ جاذب قرار داده شود، باکتری‌ها مواد موجود در مرکز پلیت را مصرف می‌کنند و سپس به طرف شیب غلظتی مادهٔ جاذب که خود ایجاد کرده‌اند، حرکت می کننـد.

نتیجهٔ این نوع حرکت گسترش دایره وار باکتری‌ها است . به طور مشابه، هنگامی که دیسکی از یک مادهٔ دافع روی پلیت آگار نیمه جامد حاوی باکتری قرار داده می‌شود، باکتری‌ها از مادهٔ دافع دور می‌شوند و در نتیجه هالهٔ روشنی اطراف دیسک ایجاد می کنند.

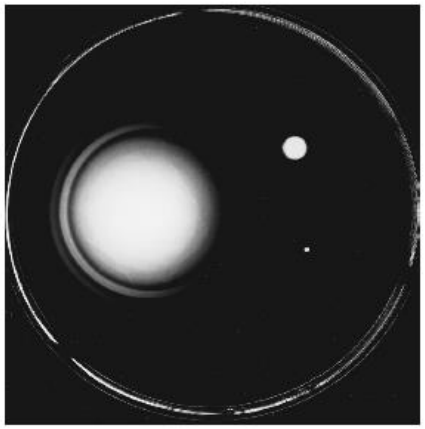


**Figure 3.37 Positive Bacterial Chemotaxis.** Chemotaxis can be demonstrated on an agar plate that contains various nutrients. Positive chemotaxis by *Escherichia coli* on the left. The outer ring is composed of bacteria consuming serine. The second ring was formed by *E. coli* consuming aspartate, a less powerful attractant. The upper right colony is composed of motile, but nonchemotactic mutants. The bottom right colony is formed by nonmotile bacteria.

**Figure 3.38 Negative Bacterial Chemotaxis.** Negative chemotaxis by *E. coli* in response to the repellent acetate. The bright disks are plugs of concentrated agar containing acetate that have been placed in dilute agar inoculated with *E. coli*. Acetate concentration increases from zero at the top right to 3 M at top left. Note the increasing size of bacteria-free zones with increasing acetate. The bacteria have migrated for 30 minutes.

**شیمیو تاکسی مثبت در باکتری ها.** شیمیوتاکسی را می‌توان روی پلیت آگار حاوی مواد غذایی مختلف نشان داد. در طرف چپ شیمیوتاکسی مثبت در $E.coli$ نشان داده شده است. حلقهٔ بیرونی از باکتری های مصرف کنندهٔ آمینو اسید سرین تشکیل شده است. حلقهٔ دوم از $E.coli$ مصرف کنندهٔ آسپارتات تشکیل شده است که قدرت جاذبهٔ کمتری دارد. کلنی بالا سمت راست باکتری‌های متحرکی هستند که از نظر شیمیوتاکسی جهش یافته‌اند. کلنی پایین سمت راست از باکتری‌های غیر متحرک تشکیل شده است.

**شیمیو تاکسی منفی در باکتری‌ها .** شیمیو تاکسی منفی $E.coli$ در پاسخ به ماده دافع استات. دیسک‌های روشن تکه های آگار فشرده حاوی استات هستند که در آگار شل کشت شده با $E.coli$ قرار داده شده‌اند . غلظت استات از صفر در بالا سمت راست تا غلظت $3\ M$ در بالا سمت چپ افزایش می‌یابد. به افزایش هالهٔ فاقد باکتری با افزایش غلظت استات توجه کنید. باکتری‌ها در عرض 30 دقیقه حرکت کرده‌اند.

باکتری ها می‌توانند به غلظت های بسیار اندک مواد جاذب پاسخ دهند ( برای بعضی قندها با غلظتی حدود $10^{-8}\ M$)، که میزان پاسخ باکتری ها با افزایش غلظت ماده جاذب افزایش می یابد. باکتری ها معمولا به مواد دافع فقط در غلظت های بالا پاسخ می دهند. اگر مواد جاذب و دافع هر دو با هم وجود داشته باشند، باکتری هر دو سیگنال را مقایسه خواهد کرد و به ماده‌ای که بیشترین غلظت موثر را دارد پاسخ خواهد داد.

مواد جاذب و دافع به وسیلهٔ پروتئین‌های اختصاصی به نام گیرنده‌های شیمیایی تشخیص داده می‌شوند. این گیرنده‌ها به مواد شیمیایی متصل می‌شوند و سیگنال هایی را به اجزای دیگر سیستم حسی انتقال می‌دهند. تا به حال حدود 20 گیرندهٔ شیمیایی برای مواد جاذب و 10 گیرندهٔ شیمیایی برای مواد دافع شناسایی شده است. این گیرنده‌ها ممکن است در فضای پری پلاسمی یا غشای پلاسمایی قرار داشته باشند. بعضی گیرنده‌ها در مراحل اولیهٔ انتقال قند به درون سلول نقش دارند.

رفتار شیمیو تاکسی باکتری ها را می توان با میکروسکوپ ردیاب (*tracking microscope*) مطالعه کرد، این میکروسکوپ با حرکت خودکار صفحهٔ نمونه حرکت باکتری را زیر نظر می‌گیرد. در صورتی که شیب غلظتی مواد شیمیایی وجود نداشته باشد، حرکت $E.coli$ و دیگر باکتری‌ها به طور تصادفی خواهد بود. برای چند ثانیه باکتری در یک خط مستقیم یا تقریباً منحنی به نام خط سیر حرکت می کند. هنگامی که باکتری در خط سیری حرکت می کند تاژه‌های آن به طور هماهنگ در یک دستهٔ مارپیچی سازماندهی شده است. سپس، تاژه‌ها از هم باز می‌شوند و باکتری متوقف شده و غل می‌خورد. غل خوردن منجر به جهت یابی مجدد و تصادفی باکتری می‌شود، به طوری که اغلب در جهت متفاوت از جهت قبلی حرکت خواهد کرد. بنابراین هنگامی که باکتری خط سیر بعدی را شروع می‌کند معمولاً در جهت متفاوتی پیش می‌رود. در مقابل، هنگامی که باکتری در معرض مادهٔ جاذبی قرار می‌گیرد، غل خودرن آن بسیار کم‌تر بوده ( طول خط سیر آن بیشتر است ) و به طرف ماده جاذب حرکت می‌کند. هر چند که این غل خوردن‌ها هنوز هم می‌تواند باکتری را از حرکت به طرف مادهٔ جاذب دور کند ولی در بیشتر موارد باکتری به مادهٔ جاذب نزدیک و نزدیکتر می‌شود. در مورد مادهٔ دافع پاسخ عکس اتفاق می‌افتد. هنگام دور شدن باکتری از مادهٔ دافع غل خورد کاهش می یابد( زمان حرکت در خط سیرها بیشتر می‌شود)

روشن است باکتری باید مکانیسم‌هایی برای درک نزدیک شدن خود به ماده جاذب ( یا دور شدن از مادهٔ دافع ) داشته باشد، رفتار باکتری با تغییرات مقطعی در غلظت مادهٔ شیمیایی شکل می‌گیرد. باکتری به واسطهٔ افزایش تدریجی غلظت مادهٔ جاذب به سمت آن حرکت می کند. بر عکس، با احساس کاهش تدریجی غلظت مادهٔ دافع، از آن دور می‌شود. گیرنده های شیمیایی باکتری در این فرآیند نقش اساس دارد.

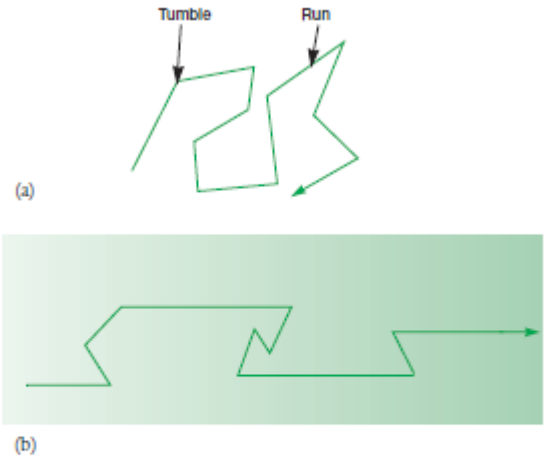



**Figure 3.39 Directed Movement in Bacteria.** (a) Random movement of a bacterium in the absence of a concentration gradient. Tumbling frequency is fairly constant. (b) Movement in an attractant gradient. Tumbling frequency is reduced when the bacterium is moving up the gradient. Therefore runs in the direction of increasing attractant are longer.

**حرکت جهت دار در باکتری‌ها .** ( الف) . حرکت تصادفی باکتری درغیاب شیب غلظتی، فراوانی غل خوردن تقریباً ثابت است ( ب) حرکت در جهت شیب مادهٔ جاذب . فراوانی غل خوردن با خرکت باکتری به سمت شیب غلظتی کاهش می یابد بنابراین، خط سیر در جهت غلظت های بالاتر مادهٔ جاذب طولانی تر است.

## مکانیسم مولکولی شیمیوتاکسی

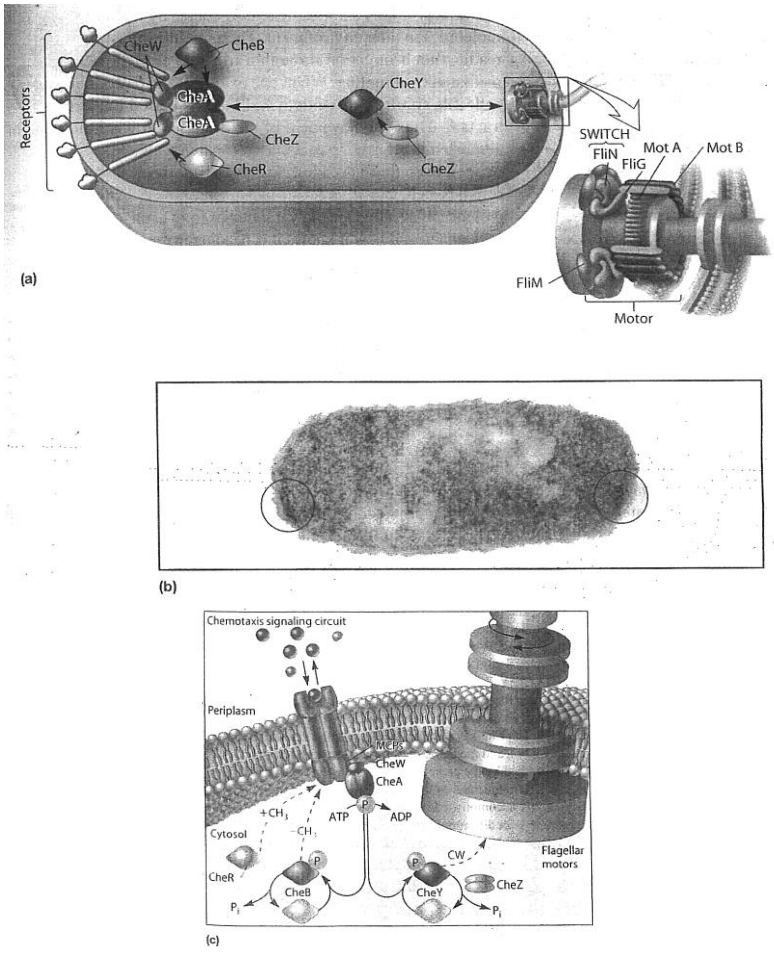
پس از بحث فراوان در مورد تنظیم فعالیت آنزیم، به کنترل مسیرهای متابولیکی به وسیله تعدیل فعالیت آنزیم های تنظیمی مشخص که در مسیرهای متابولیکی فعالیت می کنند توجه می کنیم. با این وجود تمامی آنزیم ها در مسیرهای متابولیکی عمل نمی کنند. این فرآیندها در رابطه با تغییرات رفتاری است که میکرب ها در پاسخ به محیط اطرافشان نشان می دهند. شیمیو تاکسی مثالی از نقش آنزیم ها در بروز رفتارهای میکروبی و چگونگی بروز تغییرات رفتاری تحت کنترل این آنزیم هاست.

همان طور که گفته شد، میکروار گانیسم ها قادرند مواد شیمیایی را در محیط حس کرده و بسته به این که ماده جاذب باشد یا دافع، به سمت آن جذب شده یا از آن دور شوند. برای درک بیشتر مطلب، ما حرکت به سمت مواد جاذب را مورد بررسی قرار می دهیم. بهترین سیستم مطالعه شدهٔ شیمیوتاکسی، سیستم باکتری $E.\ coli$ است که مانند همهٔ باکتری های دیگر دو روش حرکت را نشان می دهد. حرکتی که شناگری رو به جلو یا رانش نامیده می شود و حرکت در جازدن. رانش وقتی اتفاق می افتد که تاژه ها در خلاف جهت عقربه های ساعت می چرخد($CCW$) و غلتش یا در جازدن زمانی اتفاق می افتد که تاژه ها در جهت عقربه های ساعت می چرخند ($CW$).

سلول به طور متناوب این دو حرکت را انجام می دهد به طوری که غلتش جهت حرکت سلول را مشخص می کند و سلول با رانش به سمت مقصد حرکت می کند. وقتی $E.\ coli$ در یک محیط هموژن قرار می گیرد – محیطی که غلظت همهٔ واد شیمیایی در تمامی قسمت ها یکسان است، سلول به صورت تصادفی حرکت می کند بدون این که هیچ هدف یا جهت خاصی داشته باشد. این نوع حرکت، حرکت تصادفی خواده می شود. با این وجود اگر گرادیان یک مادهٔ شیمیایی در محیط به وجود بیاید، فراوانی حرکت غلتش (غلتیدن) در تمام مدتی که سلول به سمت مادهٔ جاذب حرکت می کند،کاهش می یابد. به عبارت دیگر طول زمان سپری شده در جهت حرکت به سمت مادهٔ جاذب افزایش یافته و سرانجام سلول به مادهٔ جاذب نزدیک می شود. اما این فرآیند بی عیب هم نیست. علت این است که باکتری ها کوچک هستند و اغلب به وسیلهٔ مولکول های موجود در محیط از مسیر منحرف می شوند. بنابرین باکتری ها باید مرتباً مسیر خود را طی یک فرآیند آزمون و خطا و با واسطهٔ حرکت غلتشی، دوباره تعدیل کنند. وقتی سلول مسیری را برای خود در نظر می گیرد، حرکتی مشابه

حرکت تصادفی از خود بروز می دهد با این تفاوت که تمایل به سمت مادۀ جاذب دارد. بنابراین حرکت باکتری به سمت مادۀ جاذب اغلب یک حرکت تصادفی به یک سمت و سوی مشخص است.

برای مدت بیش از سه دهه دانشمندان این رفتار پیچیده را مورد بررسی دقیق قرار دادند تا درک کنند که $E.coli$ چگونه حضور یک مادۀ جاذب را حس می کند. این که چگونه از حالت رانش به حالت غلتش حرکت می کند و دوباره بر می گردد و این که چگونه می تواند متوجه شود که در مسیر درست در حال حرکت است. بسیاری از جنبه های شیمیوتاکسی با جزئیات مشخص شده است، اما هنوز سؤالات بسیاری وجود دارد. با این وجود یک نکته واضح است: یکسری آنزیم و پروتئین های دیگر در پاسخ شیمیوتاکسی $E.coli$ دخالت دارند که به وسیلۀ تغییرات کووالانی تنظیم می شوند. یک جزء مهم آن سیستم فسفریله شدن است. سیستم های فسفریلاسیون حداقل شامل دو پروتئین می باشند. یک کیناز حس گر و یک تنظیم کنندۀ پاسخ. همان طور که در این جا توضیح داده می شود:

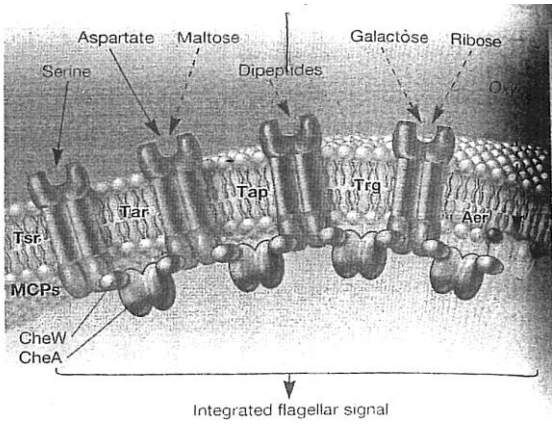



**پروتئین ها و مسیرهای سیگنالی پاسخ شیمیو تاکسی در $E.coli$**

**(الف)**: پروتئین های شیمیوتاکسی پذیرندۀ متیل ($MCPs$) مجموعه های مرتبط با $CheA$ و $CheW$ را تشکیل می دهند:$CheA$ یک حس گر کینازی است که وقتی فعال می شود، $CheB$، یک متیل استراز یا $CheY$ را فسفریله می کند، $CheY$ فسفریله با پروتئین $FliM$ در موتور تاژک واکنش می دهد و باعث چرخش تاژک می شود به طوری که جهت حرکت از $CCW$ به $CW$ تبدیل می شود و در نتیجه حرکت از حالت رانش به حالت غلتیدن در می آید.

**(ب):** کمپلکس $CheA,CheW,MCPs$ مجموعه بزرگی از گیرنده ها یا رسپتورها را در هر دو انتهای سلول تشکیل می دهد، همان طور که در میکروگراف الکترونی $E.coli$ نشان داده شده است.

**(ج):** حرکت در خلاف جهت عقربه های ساعت حرکت معمول باکتری است که به صورت مقطعی با حرکت در جهت عقربه های ساعت ($CW$) که حرکت غلتیدن را منجر می شود، جایگزین می گردد. توجه کنید که $MC P$، $CheA$ و $CheZ$ همودایمر هستند. $CheY,CheB,Chew$ و $CheR$ مونومر هستند.




**پروتئین های شیمیوتاکسی پذیرنده متیل در *E.coli*.**

مواد جاذب که به وسیله *MCP* ها حس می شوند در شکل نشان داده شده اند. برخی از این مواد وقتی به *MCP* متصل می شوند، مستقیماً حس می شوند (خطوط توپر) و بعضی به صورت غیرمستقیم (خطوط منقطع) درک می شوند. مواد جاذب شامل مالتوز، دی پپتید، گالاکتوز و ریبوز با واکنش شان با پروتئین های متصل شونده پری پلاسمی درک می شوند. اکسیژن به صورت غیرمستقیم توسط شیمیورسپتور *Aer* که فاقد ناحیه حس گر سیتوپلاسمی است و از این نظر با *MCP* تفاوت دارد حس می شود. در عوض ناحیه سیتوپلاسمی این رسپتو دارای جایگاه اتصال برای *FAD* است. *FAD* یک مولکول ناقل الکترون بسیار مهم است که در بسیاری از سیستم های انتقال الکترون یافت می شود. وضعیت احیای *MCP* متصل شده به مولکول *FAD* می تواند برای نشان دادن عملکرد سیستم انتقال الکترون مورد استفاده قرار گیرد به این ترتیب یک پاسخ تاکتیکی (قطعی) به اکسیژن ایجاد می شود.

یک سیستم فسفریلاسیون برای تنظیم فعالیت آنزیمی مورد استفاده قرار می گیرد. دیگر سیستم های فسفریلازی برای تنظیم ساخت پروتئین به کار گرفته می شوند و اغلب از همین دو جزء استفاده می کنند.

برای این که شیمیوتاکسی اتفاق بیفتد *E.coli* ابتدا باید حضور ماده جاذب را در محیط تشخیص دهد و سپس فعالیت سیستم فسفریلازی را راه اندازی می کند تا حرکت به سمت ماده جاذب امکان پذیر شود (یعنی حرکت رانشی یا غلتش). وقتی مواد شیمیایی به شیمیورسپتورهای *E.coli* متصل می شوند. حضور آنها در محیط احساس می شود. شیمیورسپتورهای فراوانی مشخص شده اند که ما در اینجا یک دسته از آن ها را مورد توجه قرار می دهیم. این رسپتورها پروتئین های شیمیوتاکسی پذیرندهٔ متیل (*MCPs*)نامیده می شوند. فسفریلاسیونی که مسیر چرخش تاژه را کنترل می کند شامل یک کیناز حس گر به نام *Che A* و یک تنظیم کنندهٔ پاسخ به نام *Che Y* است. وقتی سیستم فعال می شود. *Che A* خودش را با استفاده از *ATP* فسفریله می کند. گروه فسفریله شده سریعاً به *Che Y* منتقل می شود. *Che Y* فسفریله شده از سیتوپلاسم به موتور تاژه منتقل می شود و تحت تأثیر واکنش با موتور، مسیر چرخش از حالت *CCW* به *CW* تغییر می کند و به دنبال آن غلتش را خواهیم داشت. وقتی *Che A* غیر فعال است، تاژه در خلاف جهت عقربـــه های ساعت می چرخد و سلول با یک حالت رانش مستقیم حرکت می کند .

همان گونه که قبلاً گفته شده *MCPs* باید با سیستم فسفریلاسیون *CheA/CheY* مرتبط شود. اما این اتفاق چگونه صورت می گیرد؟ *MCP* ها درون غشای سیتوپلاسمی قرار گرفته است. قسمت پری پلاسمی هر *MCP* دارای یک جایگاه اتصال برای یک یا تعداد بیشتری مولکول جاذب می باشد. قسمت سیتوپلاسمی یک *MCP* با دو پروتئین واکنش می دهد:*CheA* و*CheW*.پروتئین *CheW* به *MCP* متصل می شود و به اتصال پروتئین *CheA* کمک می کند. رسپتورهای *MCP* به همراه *CheA* و *CheW* گروه های بزرگی را در یک یا هر دو قطب سلول تشکیل می دهند.

تصور می شود که کمپلکس *MCPs*، *CheA* و *CheW* که به عنوان تیم پیام رسان عمل می کنند، اجزای ساختمانی گروه های پیام رسان هستند. تعداد هر یک از این مولکول ها در گروه پیام رسان مشخص نیست، اما پیشنهاد شده که هر دسته دارای سه رسپتور است و اغلب از گروه های مختلف شامل *2* مولکول *CheW* و یک دایمر *CheA* تشکیل شده است.

همچنین پیشنهاد شده است که گروه های پیام رسان با هم تجمع می یابند تا اتحادیهٔ پیام رسان را تشکیل دهند. سرانجام گروه های سیگنالی (و شاید اتحادیهٔ پیام رسان) با مکانیسم های ناشناخته ای به هم متصل می شوند تا مجموعه ای رسپتور قابل مشاهده در هر قطب سلول را تشکیل دهند. بدون در نظر گرفتن استوکیومتری و ساختار دقیق مجموعه های رسپتوری کاملاً مشخص است که *MCPs* در هر گروه پیام رسان به طور هماهنگ با سایر اعضا کار می کند تا فعالیت *CheA* را تعدیل کند. وقتی هر یک از *MCPs* در هر گروه سیگنالی به یک مادهٔ جاذب متصل می شوند، اتو فسفریلاسیون *CheA* محدود شده و تاژه حرکت چرخشی در خلاف جهت عقربه های ساعت را ادامه داده وسلول به حرکت رانش خود ادامه می دهد. به علت این همکاری، سلول می تواند به غلظت خیلی پایین مواد جاذب پاسخ دهد. به علاوه می تواند سیگنال ها را از تمام رسپتورهای موجود در یک گروه دریافت کند. به عبارت دیگر وقتی سطح مادهٔ جاذب کاهش می یابد، سطح اتصال مادهٔ جاذب به *MCP* ها در یک گروه سیگنال هم کم می شود، *CheA* باعث فسفریلاسیون خود شده و

فسفریلاسیون باعث حرکت می شود. در نهایت سلول شروع به غلتش (غلتیدن) می کند. با این وجود، غلتیدن نمی تواند به طور نامحدودی ادامه پیدا کند. 10 ثانیه پس از این که حرکت به صورت CW (در جهت عقربه های ساعت) انجام می گیرد، گروه فسفریل به وسیلهٔ پروتئین CheZ از CheY حذف می شود و دوباره حرکت به صورت CCW از سر گرفته می شود.

اما E. coli چگونه غلظت مادهٔ جاذب را در محیط اطرافش می سنجد؟ و چگونه وقتی به سمت مادهٔ جاذب حرکت می کند، آن را درک می کند؟ E. coli غلظت مادهٔ جاذب را هر چند ثانیه یک بار سنجیده و مشخص می کند که غلظت آن در حال افزایش یا کاهش است. همان طور که غلظت مادهٔ جاذب در محیط افزایش می یابد، سلول به حرکت خود به شکل رانش ادامه می دهد. اگر غلظت مادهٔ جاذب کاهش یابد، غلتیدن آغاز می شود. برای مقایسهٔ غلظت مادهٔ جاذب در هر زمان، E. coli باید یک مکانیسم برای به یاد آوردن غلظت قبلی داشته باشد. E. coli این کار را با مقایسهٔ سطح کلی متیلاسیون MCPها (در سطح سیتوپلاسمی ) به میزان کلی مادهٔ جاذب متصل شونده (در سطح پری پلاسمی) انجام می دهد. قسمت سیتوپلاسمی هر MCP دارای 4 تا6 گلوتامیک اسید است که می تواند متیله شود. اضافه شدن یا حذف گروه متیل به وسیلهٔ 2 آنزیم مختلف کاتالیزمی شود. متیلاسیون به وسیلهٔ ترانسفراز مخصوص MCP که CheR نام دارد، کاتالیز شده و دمتیلاسیون هم توسط متیل استراز مخصوص آن به نام CheB انجام می شود. متیلاسیون، بدون توجه به غلظت مادهٔ جاذب با سرعت نسبتاً ثابتی انجام می گیرد. با این وجود یک کمپلکس MCP و مادهٔ جاذب نسبت به MCPای که به مادهٔ جاذب متصل نشده است، سوبسترای مناسب تری برای CheR محسوب می شود. بنابراین وقتی مادهٔ جاذب متصل می شود، تمایل برای متیلاسیون MCP افزایش می یابد. فعالیت متیل استرازی CheB هم به وسیلهٔ پروتئین CheA تغییر می کند. تمام مدتی که غلظت مادهٔ جاذب افزایش می یابد، مقدار MCP های متصل شده به مادهٔ جاذب افزایش یافته و متیلاسیون MCPs با میزان بالایی تفاق می افتد. در حالی که اگر غلظت مادهٔ جاذب کاهش یابد، سطح متیلاسیون از سطح ماده جاذب متصل شده تجاوز می کند.

این اختلاف دو سطح متیلاسیون و میزان ماده جذب شده به CheA,MCP را تحریک به اتوفسفریلاسیون می کند. در نتیجه سیگنال فسفریلاسیون برای چرخش تاژه در جهت عقربه های ساعت آغاز شده و سلول شروع به حرکت غلتیدن می کند تا دوباره در گرادیان غلظت جهت یابی کند. به این سلول به جای این که در خلاف جهت شیب غلظت حرکت کند در جهت آن و به سمت ماده جاذب حرکت می کند. در همین زمان برخی گروه های فسفر روی CheA و CheB منتقل می شود و CheB فعال شده، گروه های متیل را از MCP حذف می کند. این امر سطح متسلاسیون را کاهش می دهد و آنرا متناسب با تعداد MCPهای متصل شده به مـــــاده جاذب می کند. چند ثانیه بعد تعداد MCPهای متصل شده به ماده جاذب با سطح متیلاسیون جدید مقایسه می شود. بر اساس این دو ارتباط سلول مشخص خواهد کرد که آیا دوباره به سمت گرادیان حرکت می کند یا نه. اگر حرکت به سمت گرادیان باشد، غلتیدن متوقف می شود (فعالیت متیل استرازی هم متوقف خواهد شد) و رانش ادامه خواهد یافت.

## اندوسپور باکتری

بعضی از باکتری‌های گرم مثبت می‌توانند ساختار مقاوم، خفته و مخصوصی به نام اندوسپور ایجاد کنند. اندوسپورها در سلول هـای رویشـی چند جنس باکتریایی: Bacillus, Clostridium ( میلـه‌ای)، Sporosarcina ( کوکـوس) و انـواع دیگـر ایجـاد مـی شـوند. ایـن ساختارها به طور غیر معمول به تنش های محیطی مثل حرارت، تشعشعات ماورای بنفش، تشعشات گاما، ضد عفونی کننده های شـیمیایی، ماورای بنفش، تشعشات گاما ، ضدعفونی کننده های شیمیایی و خشکی مقاوم هستند. در واقع، بعضی اندوسپورها بیش از 100000 سال زنده باقی مانده‌اند . ویژگی مقاوم بودن اندوسپورها و این حقیقت که چند گونه از باکتری‌هـای اندوسـپورزا جـزء باکتری‌هـای بیمـاری‌زای خطرناک محسوب می‌شوند سبب شده است که اندوسپورها عملاً از اهمیت بالایی در میکرو بیولوژی غدایی، صـنعتی و پزشـکی برخـوردار باشند، چرا که امکان استریل کردن محلول ها و اشیای جامد ضروری است. اندوسپورها با جوشاندن به مدت یـک سـاعت یـا بیشـتر زنـده می‌مانند؛ از این رو باید از اتوکلاوها برای استریل کردن بسیاری از مواد استفاده کرد. اندوسپورها ازنظر تئوری نیز بسیار جالب توجه هستند. از آن جایی که باکتری‌ها این ساختارهای پیچیده را با روشی کاملاً سازماندهی شده و در یک دورهٔ زمانی چند ساعته به وجود می آورند، لذا انجام تحقیقات روی تشکیل اسپور برای فهم نحوهٔ تشکیل سـاختارهای پیچیـدهٔ زیسـتی بسـیار مناسـب اسـت. در محـیط هـای طبیعـی، اندوسپورها به بقای باکتری هنگام کاهش رطوبت یا مواد مغذی کمک می کنند.

اندوسپورها را می توان با میکروسکوپ نوری و الکترونی آزمایش کرد. اندوسپورها به علت نفوذ ناپذیر بودن به اغلب رنگ ها، هنگام رنـگ آمیزی باکتری‌ها با متیلن بلو یا رنگ‌های سادهٔ دیگر بیشتر به صورت نواحی بی‌رنگ دیده می‌شوند. لذا برای بهتر دیدن اندوسپورها از رنگ آمیزی اختصاصی استفاده می‌شود. موقعیت اندوسپور در سلول مادر ( اسپورانژیوم) غالباً در میان گونه‌ها تفـاوت دارد و لـذا مـی توانـد ارزش قابل توجهی در شناسایی باکتری‌ها داشته باشد. اندوسپورها ممکن است در مرکز، نزدیک به یک انتها ( نزدیک به انتها) یا کـاملاً انتهـایی قرار گیرند. گاهی اندوسپور به قدری بزرگ است که اسپورانژیوم را متورم می کند.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهند که اندوسپور ساختار پیچیده‌ای دارد. اسپور اغلب با پوشش نازک و ظریفی به نام اگزوسپوریوم احاطه می‌شود. پوشش اسپور که در زیر اگزوسپوریوم قرار دارد از چند لایهٔ پروتینی تشکیل شده است و ممکن است نسبتاً ضخیم باشند. پوشش اسپور به بسیاری از مولکول‌های سمی غیر قابل نفوذ است و مسئول مقاومت اسپور به مواد شیمیایی است. تصور می شود که این لایه حاوی آنزیم هایی نیز باشد که در تندش اسپور دخالت دارند. کورتکس در زیر پوشش اسپور قرار دارد و ممکن است نصف حجم اسپور را اشغال کند. این لایه از پپتیدو گلیکان تشکیل شده است، ولی اتصالات عرضی آن نسبت به پپتدوگلیکان سلول رویشی کمتر است. دیوارهٔ سلولی اسپور( یا دیوارهٔ بخش مرکزی) در داخل کورتکس قرار دارد و پروتوپلاست یا بخش مرکزی اسپور را در بر می‌گیرد. بخش مرکزی دارای ساختارهای موجود در سلول طبیعی، مثل ریبوزوم‌ها و نوکلئوئیدها است، ولی از نظر متابولیکی غیر فعال هستند.

هنوز علت دقیق مقاومت بالای اندوسپور در مقابل حرارت و دیگر عوامل کشنده معلوم نیست . بیش از 15٪ وزن خشک اسپور از کمپلکس دی پیکولینک اسید با یون های کلسیم تشکیل شده است، که در بخش مرکزی اسپور قرار دارد. برای مدت‌های مدیدی تصور می شود که دی پیکولینیک اسید مسقتیماً در مقاومت به حرارت اندوسپور نقش داسته باشد. اما امروزه جهش یافتگان مقاوم به حرارت فاقد دی پیکولینیک اسید نیز جداسازی شده اند. کلسیم در مقاومت به حرارت مرطوب، عوامل اکسید کننده و گاهی حرارت خشک کمک می کند. کمپلکس دی پیکولینیک اسید- کلسیم احتمالاً نوکلئیک اسیدهای اسپور را پایدار می‌کند. به علاوه پروتئین های محلول در اسید، کوچک و ویژه ای که قابلیت اتصال به *DNA* را دارند*(SASPs)* در اندوسپور یافت شده‌اند. این پروتئین *DNA* اسپور را اشباع می کنند و آن را از حرارت، تشعشع، خشکی و مواد شیمیایی حفظ می کنند. به نظر می‌رسد که از دست دادن آب پروتوپلاست در مقاومت به حرارت بسیار مهم باشد. کورتکس اسپور احتمالاً آب پروتوپلاست را با اسمز حذف می کند، و بدین وسیله آن را از آسیب های حرارتی و تشعشات حفظ می‌کند، همچنین به نظر می رسد که پوشش اسپور در حفاظت علیه آنزیم‌ها و مواد شیمیایی مثل آب اکسیژنه، نقش دارد. در نهایت، اسپورها دارای بعضی از آنزیم‌های ترمیم *DNA* هستند. هنگام تندش اسپور*DNA* ترمیم می‌شود و سلول دوباره فعال می گردد. به طور خلاصه، مقاومت حرارتی اندوسپور احتمالاً به خاطر عوامل متعددی می باشد: کلسیم- دی پیکولینات و پروتئین محلول در اسید تثبیت کننده *DNA*، از دست دادن آب پروتوپلاست، پوشش اسپور ، ترمیم *DNA*، پایداری بیشتر پروتئین های سلول در باکتری‌های سازگار شده برای رشد در دماهای بالا و عوامل دیگر.

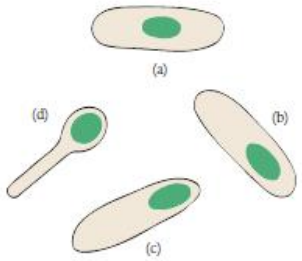



**Figure 3.40 Examples of Endospore Location and Size.**
**(a)** Central spore. **(b)** Subterminal spore. **(c)** Terminal spore. **(d)** Terminal spore with swollen sporangium.

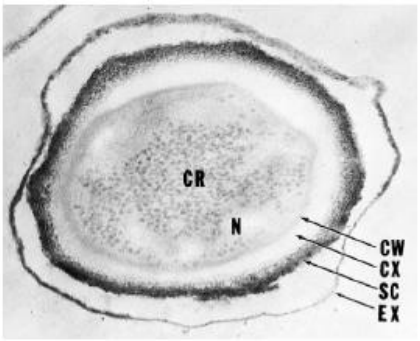



**Figure 3.41 Endospore Structure.** *Bacillus anthracis* endospore (×151,000). Note the following structures: exosporium, EX; spore coat, SC; cortex, CX; core wall, CW; and the protoplast or core with its nucleoid, N, and ribosomes, CR.

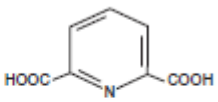



**Figure 3.42 Dipicolinic Acid.**

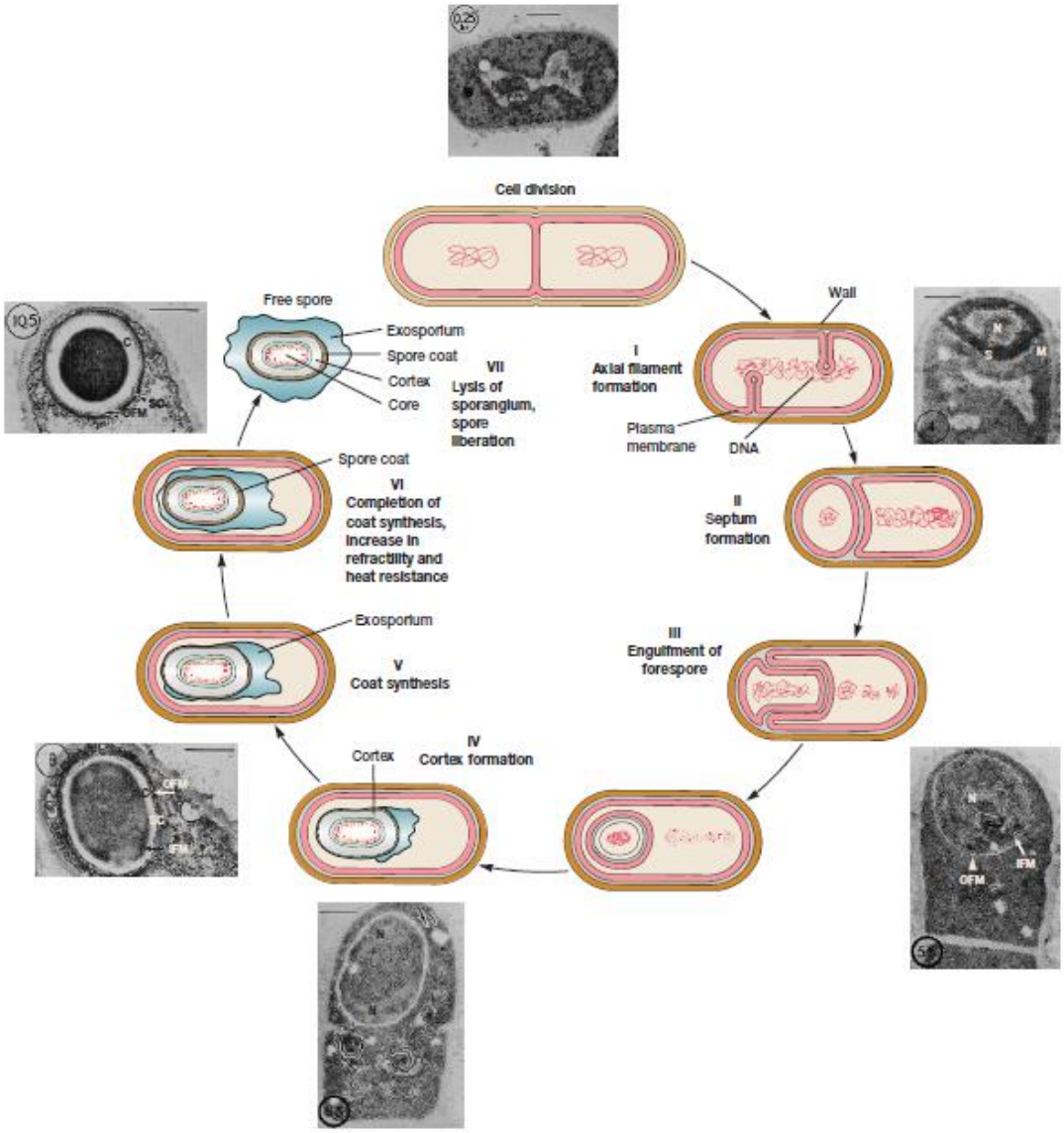



**Figure 3.43 Endospore Formation: Life cycle of *Bacillus megaterium*.** The stages are indicated by Roman numerals. The circled numbers in the photographs refer to the hours from the end of the logarithmic phase of growth: 0.25 h—a typical vegetative cell; 4 h—stage II cell, septation; 5.5 h—stage III cell, engulfment; 6.5 h—stage IV cell, cortex formation; 8 h—stage V cell, coat formation; 10.5 h—stage VI cell, mature spore in sporangium. Abbreviations used: C, cortex; IFM and OFM, inner and outer forespore membranes; M, mesosome; N, nucleoid; S, septum; SC, spore coats. Bars = 0.5 mm.

**تشکیل اندوسپور:** چرخه *Bacillus megaterium* مراحل تشکیل اندوسپور با اعداد رومی نشان داده شده اند . اعداد داخل دایره در عکس ها به مدت زمانی اشاره دارد که از پایان مرحلهٔ لگاریتمی رشد سپری شده است: $0/25\ h$ ( سلول طبیعی رویشی )؛ $4\ h$ ( سلول مرحله $II$ ، جدا شدن)؛ $5/5\ h$ ( سلول مرحله $III$ ، محصور شدن ) ؛ $6/5\ h$ ( سلول مرحله $IV$ ، تشکیل کورتکس)؛ $8\ h$ ( سلول مرحله $V$ ، تشکیل پوشش اسپور )؛ $10/5\ h$ ( سلول مرحله $VI$، اسپور بالغ درون اسپورانژیوم )؛ اختصارات به کار رفته : $C$، کورتکس ؛ $IFM$ و $OFM$ ،غشاهای داخلی و خارجی پیش اسپور؛ $M$، مزوزوم ؛ $N$ نوکلئونید؛ $S$ دیوارهٔ عرضی ؛ $SC$ ، پوشش های اسپور؛

تشکیل اندوسپور به اسپورزایی معروف است که به طور طبیعی هنگام توقف رشد ناشی از فقدان مواد مغذی شروع می شود. اسپورزایی فرایند پیچیده ای است که می‌توان آن را به 7 مرحله تقسیم کرد. ابتدا مواد هستهٔ ای رشتهٔ محوری را ایجاد می‌کنند. ( مرحلهٔ $I$)، که در ادامه با فرو رفتن غشای سلولی و محصور کردن بخشی از $DNA$ پیش می‌رود و دیوارهٔ پیش اسپور را به وجود می آورد( مرحله $II$ ) . این غشا به پیشروی خود ادامه می دهد و اندوسپور نابالغ را با غشای دوم در بر می‌گیرد. و کلسیم و دی پیکولینیک اسید تجمع می‌یابند. ( مرحله $IV$ ). سپس، پوشش های پروتئینی دور کورتکس تشکیل می‌شود ( مرحله $V$) و اندوسپوربالغ می‌شود ( مرحله $VI$) . سرانجام

آنزیم های لیتک برای آزاد شدن اسپور، اسپورانژیوم را تخریب می‌کننـد ( مرحلـه *VII* ). اسـپورزایی در *Bacillus megaterium* بـه حدود 10 ساعت زمان نیاز دارد.

تبدیل شدن اسپورهای خفته به سلول های رویشی فعال تقریباً فرآیندی به پیچیدگی اسپورزایی اسـت. ایـن فراینـد در سـه مرحلـه اتفـاق می‌افتد: (1) فعال سازی(2) تندش (3) رشد. اغلب یک اسپور حتی در یک محیط غنی از مواد مغذی نیز تندش نخواهد یافت مگـر آن کـه قبلاً فعال شده باشد. فعال سازی فرایند آماده سازی اسپور برای تندش را گویند و معمولاً به وسیلهٔ تیمارهـایی مثـل حـرارت دادن صـورت می‌گیرد. فعال سازی با تندش دنبال می شود که شامل توقف حالت خفتهٔ اسپور است. این فرآیند با متورم شدن اسـپور، پـارگی یـا جـذب پوشش اسپور، از دست دادن مقاومت به حرارت و دیگر استرس‌ها، از دست دادن قابلیت انکساری، آزاد شدن اجزای اسپور و افزایش فعالیت متابولیکی مشخص می‌شود. بسیاری از مواد مغذی یا متابولیت‌ها ( مثلاض آمینواسیدها و قندها) می‌توانند پس از فعال شدن اسـپور فراینـد تندش را راه بیاندازند. تندش با مرحلهٔ سوم یا رشد دنبال می شود . پروتوپلاست اسپور اجزای جدیدی می سازد، از بقایـای پوشـش اسـپور خارج می‌شود و دوباره به شکل باکتری فعال در می‌آید.

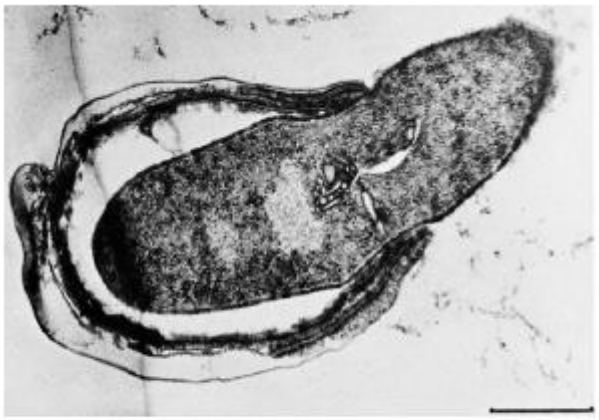


**Figure 3.44 Endospore Germination.** *Clostridium pectinovorum* emerging from the spore during germination. Bar = 0.5 µm.

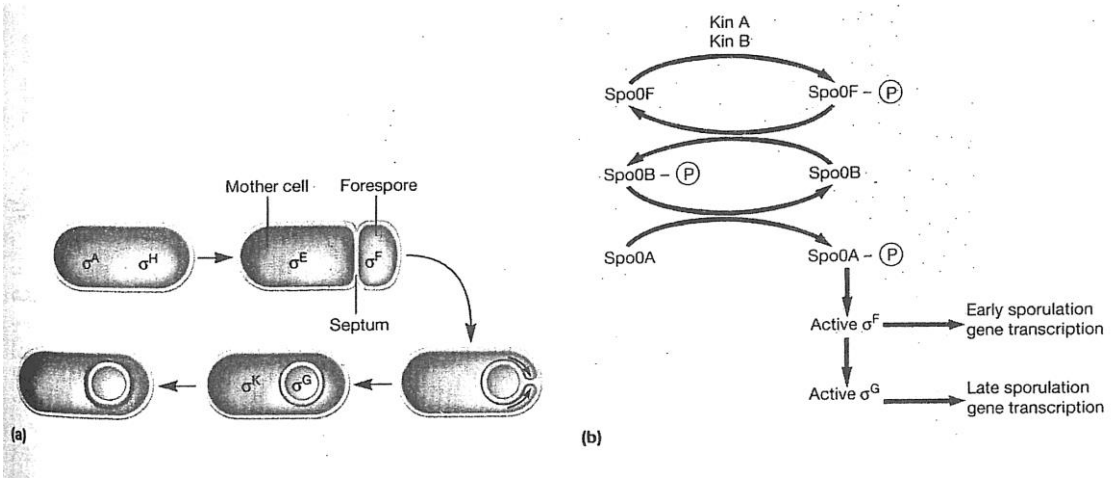
**تندش اندوسپور.** خارج شدن *Clostridum pectinovorum* از اسپور در طی تندش

## مکانیسم مولکولی اسپورزایی در *Bacillus subtilis*

تشکیل اندوسپور فرآیند پیچیده ای است که مستلزم تقسیم نامتقارن سیتوپلاسم برای تولید یک سلول مادری بزرگ و یک پیش اسپور کوچکتر است که پیش اسپور به وسیله سلول مادری و ساختاری متشکل از لایه های اضافی پوشاننده اسپور احاطه شده است . اسپورزایی تقریباً *8* ساعت طول می کشد. اسپورزایی به وسیله تبادل فسفر، تغییرات پس از ترجمه پروتئین ها، تعداد زیادی از پروتئین های تنظیمی شروع رونویسی و فاکتورهای سیگمای جایگزین کنترل می شود. در این بین فاکتورهای سیگما از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند. *RNA* پلی مراز *B.subtilis*، هنگام رشد رویشی از فاکتورهای سیگمای $o^A$ و $o^H$ برای تشخیص ژن های مورد نیاز برای بقای طبیعی استفاده می کند. با وجود این هنگامی که سلول یک پیام کمبود را حس می کند آبشاری از اتفاقات شروع می شود که منجر به تولید فاکتورهای سیگمای دیگری می گردد که در مراحل تشکیل اندوسپور و سلول مادری بیان متفاوتی را نشان می دهند.

شروع اسپورزایی با پروتئین *SpoOA* کنترل می شود. این پروتئین یک پروتئین تنظیم کنندهٔ پاسخ و بخشی از سیستم تبادل فسفر است. کینازهای حسگر به همراه این سیستم، محرک های محیطی شروع کنندهٔ اسپورزایی را تشخیص می دهند. یکی از مهمترین کینازهای حسگر *KinA* است که کمبود مواد مغذی را متوجه می شود. *KinA* خود به خود در یک هیستیدین خاص فسفردار می شود، سپس این گروه فسفریل به یک آسپارتیک اسید روی *SpoOF* منتقل می شود. با وجود این، *SpoOF* به‌طور مستقیم نمی تواند بیان ژن را تنظیم کند؛ در عوض، *SpoOF* گروه فسفریل را به هیستیدین روی *SpoOB* می دهد. *SpoOB* به نوبهٔ خود گروه فسفریل را به *SpoOA* ی فسفر دار ژن های مورد نیاز برای اسپورزایی ر به طور مثبت و ژن های غیر ضروری را به طور منفی کنترل می کند. در پاسخ به *SpoOA* بیان بیش از *500* ژن تغییر می یابد. در میان ژن هایی که بیان آن ها به وسیلهٔ *SpoOA* تحریک می شود، ژن کد کنندهٔ فاکتور سیگما $\delta^F$ به نام *sigF* و ژن کد کنندهٔ شکل غیر فعال $\delta^E$ (*pro-*$\delta^E$) وجود دارد. هنگامی که اسپورزایی شروع می شود، کروموزوم همانند سازی که یک نسخه در سلول مادر باقی می ماند و نسخهٔ دیگر در پیش اسپور قرار می گیرد. مدت اندکی پس از تشکیل دیوارهٔ اسپور، $\delta^F$ در پیش اسپور یافت می شود، و *pro-*$O^E$ در سلول مادر قرار می گیرد. *Pro-*$O^E$ به وسیلهٔ پروتئاز به شکل فعال $O^E$ بریده می شود. دو

فاکتور سیگمای $\sigma^F$ و $\sigma^E$ به ترتیب به پروموترهای ژن های مورد نیاز برای پیش اسپور و سلول مادری متصل می شوند. ای فاکتورهای سیگما بیان ژن هایی را که محصولات آن ها برای مراحل اولیهٔ تشکیل اندوسپور مورد نیاز هستند، موجب می شوند. یکی از متعدد ژن هایی که $\sigma^F$ تنظیم می کند ژنی است که فاکتور سیگمای دیگری به نام $\sigma^G$ را کد می کند که جایگزین $\sigma^F$ در تمایز اندوسپور خواهد شد. مشابه با همین روند $\sigma^E$ رونویسی فاکتور سیگمای اختصاصی سلول مادری به نام $\sigma^K$ را سبب می شود. $\sigma^K$ همانند $\sigma^E$ ابتدا به شکل غیر فعال یعنی $Pro\text{-}\sigma^K$ تولید می شود. با فعال شدن $Pro\text{-}\sigma^K$ به وسیلهٔ پروتئولیز، $\sigma^K$ رونویسی ژن های کد کنندهٔ محصولات مرحلهٔ انتهایی اسپورزایی را موجب می گردد. در کل تنظیم موقتی حاصل می شود، چرا که $\sigma^F$ و $\sigma^E$ رونویسی ژن های مورد نیاز برای مراحل اولیهٔ فرآیند اسپورزایی را موجب می شوند، در حالی که $\sigma^G$ و $\sigma^K$ برای رونویسی ژن هایی مورد نیاز است که محصولات آن ها برای مراحل نهایی ضروری هستند. به علاوه، کنترل اختصاصی بیان ژن به این علت بیان می شود که $\sigma^F$ و $\sigma^G$ در پیش اسپور قرار دارند و $\sigma^E$ و $\sigma^G$ تنها در سلول مادری یافت می شوند.




**تنظیم ژنتیک اسپورزایی در *B.subtilis*.**

(الف) شروع اسپورزایی بخشی به وسیلهٔ فعالیت های دو فاکتور سیگمای ویژهٔ مجزا کنترل می شود $\sigma^F$ در پیش اسپور قرار دارد در حالی که $\sigma^E$ به سلول های مادری محدود می شود. این فاکتورهای سیگما شروع رونویسی ژن هایی را هدایت می کنند که محصول آنها برای وقایع ابتدایی اسپورزایی مورد نیاز است. سپس $\sigma^G$ و $\sigma^K$ به ترتیب در اندوسپور در حال تشکیل و سلول مادری متمرکز می شوند. این فاکتورهای سیگما بیان ژن هایی را کنترل می کنند که محصولات آنها در مراحل پایانی اسپورزایی دخیل هستند.

(ب) فعال سازی $\sigma^F$ از طریق سیستم تبادل فسفری انجام می پذیرد که با فعال سازی پروتئین کیناز حسگر *KinA* کمبود را احساس می کند. یک هیستیدین خاص را خود به خود فسفردار می کند. سپس گروه فسفریل در یک روش مشابه از *SpoOF* به *spoOB* منتقل می شود و نهایتاً به *SpoOA* می رسد.

## رنگدانه‌های باکتریایی

باکتری‌های متعددی از انواع هوازی و بی‌هوازی پاتوژن یا ساپروفیت ممکن است رنگدانه تولید کند که به آن‌ها باکتری‌های کروموژن می‌گویند. شرایط لازم جهت تولید رنگدانه برحسب نوع باکتری متغیر است، برای تولید رنگدانه معمولا مقدار کافی اکسیژن، محیط کشت مناسب، *Ph* مناسب و همچنین وجود نیتروژن ضروری است. مواد قندی و اسیدهای آمینه نیز به تشکیل رنگدانه کمک می‌کنند. میزان تقریبا کمی از آهن ضروری می‌باشد.

در سراشیا مارسسنس مس زمینه مساعدی را جهت تولید ملانین فراهم می‌سازد اما مس و منگنز سبب مهار تولید پایوسیانین در سودوموناس می‌شوند.

### رنگ رنگدانه‌ها

1. رنگدانه آبی پایوسیانین: در سودوموناس آئروژینوزا
2. رنگدانه قرمز پرودی ژیوزین: در سراشیا مارسسنس
3. رنگدانه بنفش در باسیلوس ویولاسه
4. رنگدانه نارنجی یا زرد در استافیلوکوکوس اورئوس
5. سارسین‌های نارنجی یا زرد در برخی از مایکوباکتریوم‌ها(مثل باسیل جذام) که در باسیل جذام و سل فیتکول نام دارند.
6. رنگدانه سیاه در باسیلوس‌های مزنتریکوس
7. رنگدانه‌های فلورسانس در سودوموناس آئروژینوزا(پیویریدین)

### نقش رنگدانه‌ها

1. برخی از رنگدانه‌ها در تنفس باکتری‌ها دخیل هستند مثل سیتوکروم‌ها
2. برخی خاصیت جذب انرژی نورانی را دارند
3. برخی از رنگدانه‌ها نقش حفاظتی برای باکتری‌ها دارند مثل پرودی ژیوزین در سراشیا که سبب مقاومت باکتری به عوامل کشنده و اشعه مافوق بنفش می‌شود
4. برخی از رنگدانه‌ها فعالیت آنتی‌بیوتیکی دارند مثل پایوسیانین که روی باسیل سیاه زخم موثر است.
5. برخی از رنگدانه‌ها نقش ویتامینی دارند مثل رنگدانه‌های مایکوباکتریوم که نقش معادل ویتامین $K$ دارند.

**غلاف**

غلاف یک ساختار توخالی است که زنجیره‌ای از سلول‌ها را احاطه می‌نماید. باکتری‌های محصور در غلاف اتصال محکمی به آن ندارند و در صورت لزوم می‌توانند از غلاف خارج شوند. لذا غلاف‌ها خالی از باکتری نیز دیده شده است. با وجود این، گاهی رسوب هیدروکسید آهن یا دی اکسید منگنز در غلاف باعث تقویت اتصال آن می‌گردد. غلاف توسط سلول‌های در حال رشد تشکیل می‌شود. ترکیب غلاف از پروتئوگلیکان است و برخلاف کپسول یا لایه‌های مخاطی قسمت کربوهیدرات آن عاری از قندهای اسیدی می‌باشد بلکه تنها حاوی گلوکز و گالاکتوز آمین است که احتمالا به شکل $N$–استیله وجود دارند.

تشکیل غلاف در تعدادی از باکتری‌های رشته‌ای آبزی مانند گروه اسفروتیلوس– لپتوتریکس صورت می‌گیرد. این باکتری‌ها می‌توانند هیدروکسید فریک(و گاهی دی اکسید منگنز) را روی غلاف خود رسوب داده و باعث پایداری آن گردند. باکتری‌هایی نیز در لجن فعال یافت شده‌اند که غلاف‌های نازکی عاری از رسوبات هیدروکسید آهن دارند و تحت عنوان *Haliscomenobacter* نامگذاری شده‌اند(نام قبلی آن‌ها استرپتوتریکس بوده است). بسیاری از باکتری‌های غلاف‌دار موجود در لجن فعال گرم مثبت هستند و تاکنون چند سویه از آن‌ها جداسازی و خالص‌سازی شده است.

تشکیل غلاف، پیامدهای اکولوژیکی و تغذیه‌ای برای ارگانیسم مولد به دنبال خواهد داشت. ارگانیسم‌های غلاف‌دار توانایی اتصال به سطوح جامد را دارند. این توانایی، مزیتی برای رشد آن‌ها در آب‌های روان ملایم خواهد بود به ویژه زمانی که محدودیت مواد غذایی وجود دارد. از طرفی دیگر رشته‌های باکتریایی موجود در غلاف، در معرض حمله پروتوزوئرها و باکتری‌های شکارچی(مانند دلوویبریو) قرار نمی‌گیرند زیرا این ارگانیسم‌ها قادر به نفوذ در غلاف نخواهند بود. غلاف در برخی از سویه‌های اسفروتیلوس و لپتوتریکس توسط یک لایه لعابی احاطه می‌گردد که ممکن است در تجمع هیدروکسید آهن یا اکسیداسیون یون‌های منگنز دخالت داشته باشند. این لایه لعابی در گونه اسفروتیلوس ناتانس از هتروپلی ساکارید تشکیل شده است. سلول‌های گروه اسفروتیلوس– لپتوتریکس در یک ردیف(و به ندرت در دو یا چند ردیف) در تولید غلاف قرار می‌گیرند. معمولا در شرایط نامساعد این باکتری‌ها می‌توانند از غلاف خارج شده و توسط تاژک‌های قطبی خود در محیط آبی اطراف، حرکت کنند.

باکتری‌های غلاف‌دار، هوازی اجباری و هتروتروف هستند، البته این ارگانیسم‌ها قادر به رشد در فشارهای پایین اکسیژن نیز می‌باشند. ویتامین $B12$ از فاکتورهای ضروری برای رشد باکتری‌های گروه اسفروتیلوس– لپتوتریکس می‌باشد.