بسمه تعالی

میکروب شناسی – جلسه پنجم – 89/12/8 مدرس : دکتر موسوی جاهد

گروه جزوه محمد محسنی ، ابراهیم عبادی

ژنتیک باکتری ها

ژن که واحد وراثت است قطعاتی از DNA می باشدکه حاوی توالی نوکلئوتید برای خصوصیات بیوشیمیایی یا فیزیولوژیک خاصی است. ژنوم مجموعه ژن های باکتری را گویند که نقش عملکردی دارد. عمدتا اساس ژنتیک میکروبی بر پایه ی مشاهده ی رشد استوار است. تغییرات فنوتیپی بر اساس استعداد ژن ها برای اجازه به رشد تحت شرایطی از انتخاب مشاهده می شود برای مثال رشد باکتری ای که دارای ژن مقاومت به آمپی سیلین است و انتخاب آن نیاز به بیان آن داشته و می تواند تحت شرایط خاصی در فنوتیپ مشاهده شود. بررسی ژنتیک باکتری ها منجر به پایه ریزی بیولوژی مولکولی گردیده است. طول کروموزوم باکتری 1mm است. نظر به این که ابعاد سلول باکتری هزار برابر کوچکتر از این طول است بنابراین DNA به صورت سوپرکویلینگ(بسیار پیچ خورده) حمل می شود. باکتری کروموزوم حلقوی هاپلوئید دارد. پلاسمید،DNA حلقوی کوچکتر از کروموزوم است. ژن صفاتی که اهمیت حیاتی کم تری دارند روی پلاسمید ها قرار دارد، مثل مقاومت به آنتی بیوتیک ها. اندازه ی کوچک پلاسمیدها امکان دست کاری های ژنتیکی و سپس تغییر آن و ورودشان را به سلول ها فراهم می کند. به این ترتیب پلاسمیدها به طور رایج در مهندسی ژنتیک به کار گرفته می شوند. کروموزوم و پلاسمید که حاوی اطلاعات ژنتیکی برای همانند سازی خود هستندReplicon نامیده می شوند. ژن های ضروری برای رشد و تقسیم باکتری ها بر روی کروموزوم قرار دارد .

تکثیر DNA در باکتری ها

DNA باکتری مخزن اطلاعات ژنتیکی باکتری است که شامل تمام خصوصیات سلول و عملکرد های سلولی می باشد. بنابراین همانندسازی صحیح این مولکول از اهمیت زیادی برخوردار است همانند سازی DNA از یک نقطه شروع و در دو جهت حرکت می کند. روند تکثیر به آنزیم های زیادی نیاز دارد که عبارتند از: آنزیمی برای باز کردن دو رشته ی DNA در مبدأ، این آنزیم تحت نام هلیکاز دو رشته ی قدیمی(مادر) را از هم باز می کند و هر رشته به عنوان الگو برای سنتز رشته ی جدید یا دختر مورد استفاده قرار می گیرد. آنزیمی که برای سنتز پرایمرها به منظور شروع همانندسازی به کار می رود آنزیم پرایمه آز است. آنزیمی که برای سنتز یک کپی از DNA مصرف می شود DNA پلی مراز وابسته به DNA گفته می شود. زمانی که سنتز DNAخاتمه یافت ، هر سلول جدید حاوی یک رشته ی مادری و یک رشته ی دختری می گردد. یادآوری می شود که DNAباید در جهت $5' \rightarrow 3'$ بر اساس الگو گسترش یابد و قطعات DNA توسط آنزیم DNA لیگاز به یکدیگر متصل می شوند. آنزیم ژیراز سوپرکویلینگ یا ابرمارپیچ را ایجاد می کند.

سنتز Pr

رونویسی ابتدا باید انجام شود. اطلاعات حمل شده در DNA به mRNA (RNAپیام آور)رونویسی می شود.ترجمه فرآیندی است که طی آن رمز ژنتیکی موجود در RNA به توالی های آمینواسید تبدیل می شود.

به منظور ترجمه، توالی نوکلئوتیدی mRNA به توالی های سه تایی از نوکلئوتیدها تقسیم می گردد و هر یک از نوکلئوتیدهای سه تایی یک کدون نامیده می شوند که امینواسید خاصی را رمزدهی می کنند.

tRNA آمینواسید مربوطه را حمل می کند. آنزیم پپتیدیل ترانسفراز انتقال اسیدهای آمینه جدید را به رشته Pr در حال تشکیل فراهم می کند. با این مکانیسم mRNA به ترتیب ترجمه می شود و وقتی با یک کدون مبهم مواجه شود، کدون مبهم باعث می شود سنتز رشته Pr پایان یابد.

روند سنتز Pr به وسیله ی ریبوزوم 70s هدف اصلی فعالیت ضد میکروبی بسیاری از آنتی بیوتیک ها است.

فاژها

باکتریوفاژها، ویروس هایی هستند که باکتری ها را آلوده می کنند. پیکر باکتریوفاژهااز ژنوم مرکزی و همچنین پوشش پروتئینی به نام کپسید به وجود آمده است. فاژ دارای یک سر و یک دم است.

دم از دو لایه ی متحدالمرکز تشکیل شده و وسط آن خالی است. بخش مرکزی راCore و بخش خارجی را غشای دمی یا Sheath و حد واسط سر و دم را Collar می گویند. در انتهای فاژ صفحه انتهایی را داریم که به آن سنجاق ها(کوتاه) و رشته های دمی(بلند) متصل است که این سنجاق ها و رشته ها به اتصال فاژ به باکتری کمک می کنند.

فاژهادارای دو چرخه ی تکثیر هستند،چرخه ی لیتیک وچرخه ی لیزوژنیک.

چرخه ی لیتیک که با اتصال ، ورود و سنتز اجزای ویروسی و بلوغ و رهاسازی همراه است و دیگری لیزوژنیک که پس از ورود ژنوم فاژ به سلول میزبان DNA آن با DNA سلول باکتری ادغام می شود و همراه با آن به نسل های بعدی منتقل می شود و به حیات خود ادامه می دهد در این حالت پروتئین های ویروسی ساخته نمی شود و اکثر ژن های فاژ به حالت غیرفعال باقی می مانند چنین رابطه ای را لیزوژنی می نامند و سلولی که حاوی فاژ غیرفعال یا نهفته یا پروفاژ(معتدل) است ، به آن باکتری لیزوژن گفته می شود.گاهی اوقات پروفاژ به طور خود به خودی یا تحت تاثیر عوامل القاکننده مثل اشعه UV فعال می گردد و وارد چرخه لیتیک می گردد که در نهایت فاژهای جدید تولید و لیز باکتری صورت می گیرد. یکی از معروف ترین این فاژها ، فاژ لامبدا است که به E.Coli حمله می کند.

تنوع ژنوتیپی(Genetypic variation):

توانایی باکتری ها در تغییر دادن اطلاعات ژنتیکی برای زنده ماندن آن ها در محیط زیست در حال تغییر ضروری است چنین تغییری در ژنوم باکتری به دو صورت انجام می شود: 1- جهش 2- نوترکیبی یا انتقال اطلاعات ژنتیکی

جهش در جریان همانندسازی DNA ممکن است تغییراتی در توالی بازهای DNA رخ دهد که به این تغییرات جهش (Mutation) گویند. در موتاسیونی به نام transition یک پورین با پورین دیگر یا یک پیریمیدین با پیریمیدین دیگر عوض می شود، در جهش دیگری که به آن transvartion گفته می شود یک پورین با یک پیریمیدین یا برعکس جایگزین میشود. جهش ها می توانند خود به خودی باشند یا این که تحت تاثیر عوامل جهش زا (عوامل موتاژن) اتفاق بیفتد. عوامل جهش زای فیزیکی مثل حرارت ، اشعه ی X و UV باعث شکستن و غیر فعال شدن DNA می شود. عوامل جهش زای شیمیایی مثل اسید نیترو که مستقیما روی DNA اثر می کنند ، باعث بروز تغییر در بازهای DNA می گردند مثل حذف شدن باز از اسکلت DNA .

نوترکیبی

روش های انتقال اطلاعات ژنتیکی از یک باکتری به باکتری دیگر سه نوع است.

1-**ترانسفورمیشن:** باکتری ها قادرند DNA را از باکتری دیگری که قرابت نزدیکی با آن ها دارد، از طریق دیواره ی سلولی شان ، بدون هیچ واسطه ای دریافت کنند. در این جا فقط لازم است که این اطلاعات ژنتیکی که می خواهند منتقل شوند، قطعه ی کوچکی باشد و سلول پذیرا باید غشایش این ویژگی را داشته باشد که این قطعات بتوانند از منافذ غشا عبور نمایند و وارد سلول شوند. ترانسفورمیشن یا به حالت طبیعی یا در آزمایشگاه به علت غلظت زیاد نمک (NaCl) و شوک حرارتی یا الکتریکی انجام می شود. باکتری هایی که به طور طبیعی ترانسفورمیشن انجام می دهند در جنس های مختلفی یافت می شوند که شامل باسیلوس سوبتیلیس ، هموفیلوس آنفولانزا ، نایسریا گونوره و پنوموکک.

تراسفورمیشن به عنوان یک عامل اصلی در تکامل میکروب ها تشخیص داده شده است. ترانسفورمیشن طبیعی فرآیندی است که نیاز به پروتئین های اختصاصی تولید شده توسط سلول گیرنده دارد .

در مورد گونه های نایسریا و هموفیلوس ، جهت ورود DNA ، توالی های اختصاصی از DNA مورد نیاز است. این توالی های ورود ، اختصاصی گونه ای است ، بنابراین تبادل ژنتیکی را به یک گونه ی منفرد محدود می کند.

2-**ترانسداکشن:** فاژها در جریان تکثیرشان ممکن است مقداری از DNA سلول میزبان را به داخل کپسید خود ببرند حال وقتی که این فاژ آزاد شود و به باکتری جدیدی حمله کند DNA سلول دهنده می تواند به کروموزوم سلول گیرنده متصل شود. این نوع نوترکیبی فقط در سوش های نزدیک به هم رخ می دهد. از طرفی فاژ می تواند DNA خود را در کروموزوم باکتری ادغام کند که باعث ایجاد پروتئین های جدیدی می شود، مثلا سم دیفتری یا سم اریتروژنیک یا سم قرمزی زا در بعضی از انواع استرپتوکوک ها(مثل مخملک).

3-**کانژیوگیشن (هم یوغی یا لقاح):** (یادآوری:پلاسمیدها دو نوع هستند،معمولی که باعث چسبندگی باکتری می شود و جنسی مانند پلی عمل می کند که دو باکتری را به هم وصل می کند.)

پلاسمیدهای لقاحی(پلاسمیدهای F) در انتقال DNA بین باکتری ها شرکت می کنند. این ها حامل ژن هایی هستند که تشکیل پیلی جنسی را کنترل می کنند. پلاسمید لقاحی در باکتری دهنده یا F+ وجود دارد. این حلقه باز شده، یک رشته ی آن به باکتری فاقد پلاسمید یا F^- منتقل می شود وسپس مکمل هر رشته ساخته شده است و هر دو F+ می شوند این انتقال به سرعت بین باکتری های غیر خویشاوند نیز انجام می شود.

انتقال پلاسمیدی ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک مهم تریم مکانیسمی است که توسط آن مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها منتشر می شود. بعضی از پلاسمیدها تا 6 ژن مختلف از این نوع مقاومت را حمل می کنند. در موارد نادری ممکن است قطعاتی از کروموزوم باکتری دهنده به همین روش منتقل شود.

ترانسپوزون ها

عناصر ژنتیکی کوچکی هستند که می توانند بین پلاسمیدها و DNA کروموزومی یک سلول جا به جا شوند. انتهای ترانسپوزون ردیف ویژه ای از بازها به نام توالی ادغامی دارد که ترانسپوزون را قادر می کند به وسط رشته ی DNA وارد شود.

ژن های R(مقاومت) که تعیین کننده ی مقاومت نسبت به پنی سیلین در گونه ها و جنس های مختلف باکتری ها می باشند ، با ترانسپوزون ها در ارتباط اند. بر خلاف پلاسمیدها ترانسپوزون ها قابلیت تکثیر مستقل ندارند و تکثیرشان وابسته به ژنوم باکتری است.

مهندسی ژنتیک

ناقل ها یا وکتورهای متعددی که امکان انتقال DNAرا بین باکتری ها فراهم می سازند ، اساس مهندسی ژنتیک را تشکیل می دهند مثل پلاسمیدها و فاژها. از این تکنیک در زمینه ی تحقیق و تولید واکسن و مطالعه ی بیماری زایی باکتری ها و مقاومت نسبت به مواد ضد میکروبی و ... استفاده می شود.