دانش بیماری‌شناسی گیاهی سال پنجم، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۵
Plant Pathology Science Vol. 5(2), 2016

نقش زیستی باکتریوسین‌های باکتری‌های گرم منفی

ناهید گرایلی و ساره بقایی‌راوری✉

دانشجوی دکتری و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۱۲

گرایلی ن. و بقایی‌راوری س. ۱۳۹۵. نقش زیستی باکتریوسین‌های باکتری‌های گرم منفی. *دانش بیماری‌شناسی گیاهی* ۵(۲): ۷۰-۶۳.

چکیده

باکتریوسین‌ها ترکیبات پپتیدی یا پروتیینی ضدمیکروبی هستند، که توسط بعضی باکتری‌های گرم‌منفی به‌منظور رقابت در تغذیه و اشغال فضای زیستی، تولید می‌شوند. این مواد قادر به از بین بردن و یا بازدارندگی از رشد باکتری‌های نزدیک به باکتری تولیدکننده هستند. این در حالی است که باکتری تولیدکننده به علت داشتن پروتیین ایمنی مخصوص، از صدمه این مواد مصون می‌ماند. باکتریوسین‌ها از لحاظ اندازه، سلول هدف، نحوه‌ی عمل و سازوکار ایمنی، متنوع هستند. تا کنون تعداد زیادی از باکتریوسین‌های تولیدشده توسط جدایه‌های خاصی از باکتری‌های گرم منفی شناسایی شده‌اند که غالباً وزن مولکولی بالایی دارند. در این مقاله نحوه‌ی تشکیل و تاثیر باکتریوسین‌ها و نقش آن‌ها در مدیریت بیماری‌های باکتریایی شرح داده شده است.

واژه‌های کلیدی: باکتریوسین، *Pseudomonas*، *Xanthomonas*

مقدمه

باکتری‌ها به‌منظور رقابت بهتر در اشغال فضای زیستی و همچنین دسترسی به مواد غذایی بیشتر، طیف وسیعی از توکسین‌های خارج سلولی کشنده، شامل باکتریوسین‌ها (Bacteriocins) تولید می‌کنند. باکتریوسین‌ها، پپتیدها یا پروتیین‌هایی با سنتز ریبوزومی بوده و بسیار متنوع هستند (Cotter *et al*. 2005). بیش از ۹۹ درصد باکتری‌ها، حداقل یک نوع باکتریوسین تولید می‌کنند. به علت فراوانی و تنوع باکتری‌های تولیدکننده و عملکرد انتخابی باکتریوسین‌ها به عنوان، سلاح‌های میکروبی انتخابی، نام برده می‌شوند (Riley & Wertz 2002). کلی‌سین (Colicin)

✉مسئول مکاتبه، پست الکترونیک: s.baghaee@ferdowsi.um.ac.ir

اولین باکتریوسین گزارش شده در سال ۱۹۲۵ بود، که توسط جدایه‌ایی از باکتری *Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919 می‌شود قادر به جلوگیری از رشد برخی جدایه‌های همین باکتری بود. از آن زمان، این باکتریوسین به‌عنوان سیستم مدل برای مطالعات بیوشیمیایی، ژنتیکی، اکولوژیکی و تکاملی باکتری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (Smarda & Obdrzalek 2001, Riley & Wertz 2002a, Kirkup & Riley 2004). تاکنون تعداد زیادی از باکتریوسین‌های تولیدشده توسط جدایه‌هایی از باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زای گیاهی شناسایی شده‌اند مانند پایوسین‌تیپ‌اس (S-type pyocins) که توسط *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* تولید می‌شود (Michel-Briand & Baysse 2002). همچنین باکتریوسین‌های تولیدی توسط *Xylella fastidiosa* عامل بیماری پیرس انگور و *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* عامل سوختگی باکتریایی برنج شناسایی شده‌اند (Ochiai *et al.* 2005, Simpson *et al.* 2000, Van Sluys *et al.* 2003). از گونه‌های *Pectobacterium* که عامل پوسیدگی نرم بسیاری از گیاهان هستند، چندین نوع باکتریوسین شناسایی شده که از آن جمله می‌توان به کاروسین‌اس و دی (Carocin S,Carocin D)، کارتووراسین (Carotovoracin) و پکتوسین (Pectocin M1, M2) اشاره کرد(Roh *et al.* 2010, Chan *et al.* 2011Grinter *et al.* 2012, Nguyen *et al.* 2001, Yamada *et al.* 2006). این مقاله چگونگی تولید باکتریوسین‌ها توسط باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زای گیاهی و نظریه‌های ارایه‌شده در مورد نقش زیستی آن‌ها را شرح می‌دهد.

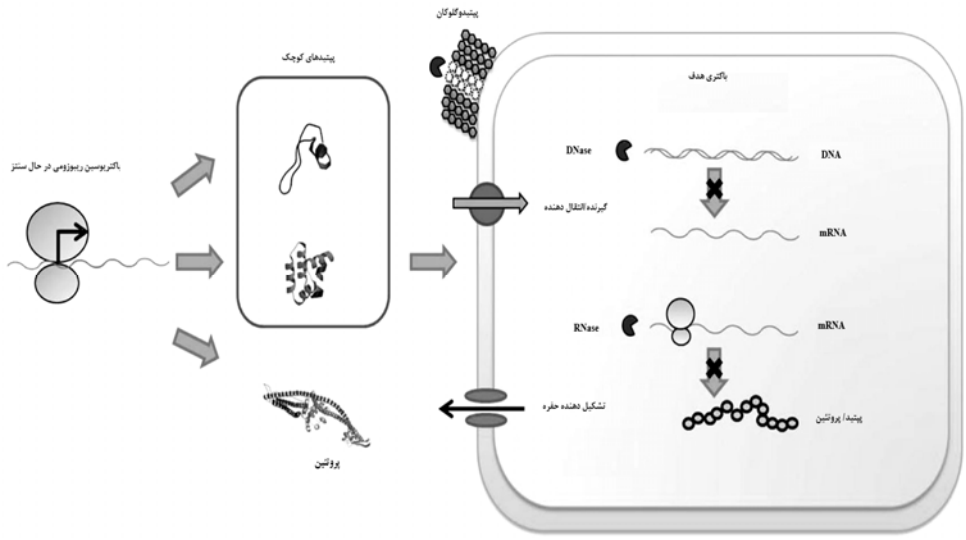
۱- باکتریوسین‌های تولیدی باکتری‌های گرم منفی

باکتریوسین‌های باکتری‌های گرم منفی را بر اساس اندازه آن‌ها به سه گروه تقسیم می‌کنند: گروه اول باکتریوسین‌های شبه‌کلی‌سین با اندازه ۲۵ تا ۸۰ کیلودالتون که محرک سیستم اس او اس (SOS:Save Our Ship) بوده و توسط *E. coli* تولید می‌شوند. ژن‌های کدکننده کلی‌سین روی پلاسمید قرار گرفته‌اند و تاکنون تیپ‌های مختلفی از این باکتریوسین گزارش شده است. دیگر باکتری‌های تیره *Enterobacteriaceae* نیز باکتریوسین‌های متنوعی تولید می‌کنند. تعداد زیادی از این باکتریوسین‌ها از لحاظ ساختاری و عملکردی شبیه به کلی‌سین می‌باشند، از این‌رو این گروه معمولاً با عنوان باکتریوسین‌های شبه‌کلی‌سین (CLBs) شناخته می‌شوند. از جمله می‌توان به کاروسین‌اس۱ (Carocin S1) اشاره کرد (Chavan *et al.* 2005, Chuang *et al.* 2007). گروه دوم شامل میکروسین‌ها با اندازه خیلی کوچک (کمتر از ۱۰ کیلو دالتون) هستند. میکروسین‌ها غالباً توسط باکتری‌های تیره *Enterobacteriaceae* تولیدشده و مقاومت بالایی در برابر گرما، تغییرات pH و فعالیت‌های پروتئازی دارند (Rebuffat 2012, Collin *et al.* 2013). گروه سوم باکتریوسین‌های شبیه دم فاژ (Phage tail-like) هستند که از اتصال پپتیدهای چندتایی به وجود آمده‌اند و مقاوم به پروتئازها و نوکلئازها می‌باشند و سلول حساس را از طریق

غیرقطبی کردن غشای سلولی از بین می‌برند. فرض بر آن است که این گروه احتمالاً فاژهای ناقص بوده و یا از فاژهایی منشأ گرفته‌اند که عملکرد آن‌ها به سمت باکتریوسین‌ها تکامل یافته است. به‌عنوان مثال پایوسین‌آر۲ (Pyocin R2) که توسط یک گونه *Pseudomonas* تولید می‌شود احتمالاً از بقایای فاژ پی۲ (P2) است و یا پایوسین اف۲ (Pyocin F2) که بسیار شبیه به فاژ لامبدا می‌باشد (Riley & Chavan 2007). یکی از شناخته‌شده‌ترین ترکیبات این گروه کارتووراسین (Carotovoricin) است که توسط یک گونه *Pectobacterium* تولید می‌شود (Yamada *et al*. 2006).

۲- نحوه عمل باکتریوسین‌ها

باکتریوسین‌ها با شناسایی اختصاصی گیرنده‌های سطح سلول باکتری هدف، وارد سلول آن شده و با یکی از چهار روش زیر آن را از بین می‌برند: ۱) ایجاد کانال‌های نفوذپذیر یونی در غشای سیتوپلاسمی، ۲) تخریب غیراختصاصی DNA سلولی با فعالیت نوکلئازی، ۳) ممانعت از سنتز پروتیین از طریق هضم اختصاصی 16s rRNA، ۴) لیزکردن سلول از طریق جلوگیری از سنتز پپتیدوگلوکان. سلول هدف می‌تواند نسبت به تأثیر باکتریوسین‌ها مقاومت و یا تحمل نشان دهد (شکل ۱). این مقاومت معمولاً از طریق تغییر در گیرنده‌های سطح سلول و یا سیستم انتقال باکتریوسین‌ها می‌باشد (Cascales *et al*. 2007).



شکل ۱- چگونگی تولید و عملکرد باکتریوسین‌ها: باکتریوسین‌ها ترکیبات پروتیینی یا پپتیدی بوده که توسط ریبوزوم تشکیل می‌شوند و پس از رهاسازی به‌وسیله باکتری تولیدکننده می‌توانند به گیرنده‌های اختصاصی در سطح سلول‌های باکتری حساس متصل شوند و آن را با یکی از سازوکارهای تشکیل حفره، فعالیت نوکلئازی و یا سایر روش‌ها از بین ببرند (Yang *et al*.2014).

۳- سازمان‌دهی ژنی

گروه ژنی کدکننده اکثر باکتریوسین‌ها، از سه ژن تشکیل شده است که پروتیین‌های توکسین، ایمنی و لیزکننده را تولید می‌کنند و این گروه ژنی معمولاً روی پلاسمید قرارگرفته و قابل انتقال به سلول‌های باکتریایی دیگر است (Ito *et al*. 2009, Burton *et al*. 2013). ژن کدکننده توکسین (*bin*)، پروتیینی تولید می‌کند که فعالیت از بین بردن سلول هدف را بر عهده دارد. ژن کدکننده ایمنی (*Im*) پروتیینی را تولید می‌کند که سلول تولیدکننده را در برابر فعالیت کشندگی توکسین تولیدشده توسط خود سلول محافظت می‌کند. در واقع این پروتیین ایمنی به منطقه فعال و مؤثر پروتیین توکسین تولیدشده توسط سلول تولیدکننده متصل شده و آن را برای سلول، غیرفعال می‌کند. ژن کدکننده پروتیین ایمنی تحت تنظیم دو پروموتر قرار دارد: پروموتر لکس‌آ (LexA) از اپرن باکتریوسین و پروموتر دائمی خود ژن ایمنی. این پروموتر دائمی باعث تولید دائمی پروتیین ایمنی شده تا در هر شرایطی سلول را در برابر باکتریوسین‌های مشابه تولیدشده توسط سایر باکتری‌ها حفاظت کرده و احتمال خطر برای باکتری تولیدکننده را تا حد امکان کاهش دهد. ژن کدکننده پروتیین لیزکننده که پروتیین رهاسازی باکتریوسین هم نامیده می‌شود سلول تولیدکننده را لیز می‌کند تا باکتریوسین تولیدشده از سلول خارج شود. در مواردی ژن تجزیه‌کننده (*lysis*) ممکن است در اپرن ژنی وجود نداشته باشد، خصوصاً زمانی که بیش از یک گروه ژنی باکتریوسین به‌طور هم‌زمان در یک سلول وجود داشته باشند(Nakayama *et al*. 2000, Kleanthous 2010). بر اساس نحوه فعالیت پروتیین توکسین، جهت قرارگیری ژن ایمنی متفاوت است. علاوه بر این تفاوت دیگری که میان باکتریوسین‌هایی با فعالیت نوکلئازی و تشکیل حفره وجود دارد در اندازه‌ی آن‌ها است، به‌طوری که باکتریوسین‌هایی با فعالیت تشکیل کانال از ۴۴۹ تا ۶۲۹ آمینواسید تشکیل شده‌اند، این در حالی است که باکتریوسین‌های نوکلئازی دامنه اندازه وسیع‌تری داشته و می‌توانند ۱۷۸ تا ۷۷۷ آمینو اسید داشته باشند (Riley *et al*. 2001, Wertz & Riley 2004, Chavan *et al*. 2005).

۴- تنظیم بیان ژن

بیان باکتریوسین‌ها غالباً تحت تنظیم سیستم واکنشی اس‌اواس (SOS) می‌باشد. اپرن ژنی این ترکیبات معمولاً شامل دو جعبه لکس‌آ (LexA) هستند که پشت سرهم قرار گرفته و در یک یا دو باز هم‌پوشانی دارند. جعبه لکس آ (LexA) شامل ۲۰ جفت باز و توالی پالیندرومی می‌باشد. در شرایط طبیعی بیان این اپرن ژنی به‌شدت توسط پروتیین لکس‌آ (LexA) ممانعت می‌شود. این پروتیین همچنین ممانعت کننده بیان ژن‌های سیستم اس‌اواس (SOS) نیز می‌باشد (به‌استثنای کلی‌سین DF13). عواملی که در روشن شدن سیستم اس‌اواس(SOS) مؤثرهستند، در تولید باکتریوسین‌ها نیز نقش دارند. از آن جمله می‌توان عوامل مختلف فیزیکی مثل نور UV، داروهای شیمیایی و شرایط استرس‌زای محیطی را نام برد (Cascales *et al*. 2007).

۵- فعالیت بخش‌های تشکیل‌دهنده باکتریوسین‌ها

بسیاری از پروتیین‌های توکسینی از سه بخش فعال تشکیل شده‌اند: ۱) بخش انتقال‌دهنده در انتهای نیتروژن دار پروتیین باکتریوسین که این قسمت برای انتقال در میان غشا سلول هدف حائز اهمیت است. بر همین اساس باکتریوسین‌ها به دو گروه تقسیم‌بندی می‌شوند: باکتریوسین‌های وابسته به سیستم انتقال تون (Ton)، باکتریوسین‌های وابسته به سیستم انتقال تول (Tol) (Dimov *et al*. 2005, Kleanthous 2010, Cascales *et al*. 200). ۲) بخش مرکزی اتصال شونده به گیرنده که به گیرنده‌های موجود در غشا خارجی سلول هدف اتصال می‌یابد. ۳) بخش کشنده در انتهای کربن دار پروتیین باکتریوسین: که در باکتریوسین‌های تشکیل‌دهنده حفره باعث ایجاد کانال و در باکتریوسین‌های نوکلئازی خاصیت تخریب اسیدهای نوکلئیک را دارد (Kleanthous 2010, Yang *et al*. 2014).

نتیجه‌گیری

باکتریوسین‌ها مواد پپتیدی یا پروتیینی خارج سلولی تولیدی توسط بعضی جدایه‌های باکتری‌های گرم منفی از جنس‌های *Pseudomonas*، *Pectobacterium* و *Xanthomonas* هستند، که می‌توانند جدایه‌های بیماری‌زای گیاهی همان گونه را کنترل نمایند. این مواد با اثرگذاری انتخابی بالا و هم‌چنین به‌عنوان یک عامل طبیعی و بدون اثر مخرب زیست‌محیطی، می‌توانند عملکردی بسیار مؤثرتر از سموم شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌هایی با طیف اثرگذاری وسیع داشته باشند. بنابراین جمع‌آوری و شناسایی دقیق این جدایه‌ها، نوع باکتریوسین‌های تولیدی آن‌ها و ژن‌های تولیدکننده آن‌ها و کاربرد تکنیک‌های انتقال این ژن‌ها به باکتری‌های مفید خاک‌زی می‌تواند ما را به سمت تولید و کاربرد مؤثرتر عوامل مبارزه زیستی هدایت کند. تولید گیاهان تراریخته مقاوم، حاوی ژن(های) تولیدکننده این باکتریوسین‌ها را می‌توان به عنوان گامی مؤثر برای مدیریت بیماری‌های باکتریایی خطرناک، در جهت کاهش مصرف سموم شیمیایی و حفظ سلامت محیط‌زیست **پیشنهاد** کرد .

منابع **References**

1. Burton J. P.,Wescombe P. A., Macklaim J. M., Chai M. H., Macdonald K. & Hale J. D. 2013. Persistence of the oral probiotic *Streptococcussali- varius*M18 is dose dependent and mega plasmid transfer can augment their bacteriocin production and adhesion characteristics. *Plos One* 8:e65991.
2. Cascales E., Buchanan S. K., Duche D., Kleanthous C., Lloubès R. & Postle K. 2007. Colicinbiology**.** *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 71:158–229.
3. Chan Y., Wu J., Wu H., Tzeng K., Chuang D. 2011. Cloning, purification, and functional characterization of Carocin S2, a ribonuclease bacteriocin produced by *Pectobacterium carotovorum*. *BMC Microbiology* 11:1.

4. Chavan M., Rafi H., Wertz J., Goldstone C. & Riley M. A. 2005. Phage associated bacteriocins reveal a novel mechanism for bacteriocin diversification in Klebsiella. *Journal of Molecular Evolution* 60:546–556.

5. Chuang D. Y., Chien Y. C. & Wu H. P. 2007. Cloning and expression of the Erwiniacarotovora subsp. carotovora gene encoding the low-molecular-weight bacteriocin, carocin S1. *Journal of Bacteriology* 189:620–626.

6. Collin F., Thompson R. E., Jolliffe K. A., Payne R. J. & Maxwell A. 2013. Fragment soft hebacterial toxin microcin B17 asgyrase poisons. *Plos One* 8:e61459.

7. Cotter P. D., Hill C., Ross R. P. 2005a. Bacterial lantibiotics: strategies to improve therapeutic potential. *Current Protein and Peptide Science* 6:61–75.

8. Cotter P. D., Hill C. & Ross R. P. 2005b. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology* 3:777–788.

9. Dimov S., Ivanova P., Harizanova N. & Ivanova I. 2005. Bioactive peptides used by bacteriain the concurrence for the ecological niche: eneral classification and mode of action (overview). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 3:3–22.

10. Grinter R., Milner J., & Walker D. 2012. Ferredoxin containing bacteriocins suggest a novel mechanism of iron uptake in *Pectobacterium* spp. *PLos One* 7:e33033.

11. Ito Y., Kawai Y.,Arakawa K., Honme Y.,Sasaki T. & Saito T. 2009. Conjugative plasmid from *Lactobacillus gasseri* LA39 that carries genes for production of and immunity to the circular bacteriocin gassericin A. *Applied and Environmental Microbiology* 75:6340–6351.

12. Kerr B., Riley M. A., Feldman M. W. & Bohannan B. J. 2002. Local dispersal promotes biodiversity in a real-life game of rock-paper-scissors. *Nature* 418:171–174.

13. Kirkup B. C. & Riley M. A. 2004. Antibiotic-mediated antagonism leads to a bacterial game of rock-paper-scissors in vivo. *Nature* 428:412–414.

14. Kleanthous C. 2010. Swimming against the tide: progress and challenge sinour understanding of colicin translocation. *Nature Reviews Microbiology* 8:843–848.

15. Michel-Briand Y. & Baysse C. 2002. The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie* 84: 499–510.

16. Miller M. B. & Bassler B. L. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annual Review of Microbiology* 55:165–199.

17. Nakayama K., Takashima K., Ishihara H., Shinomiya T., Kageyama M., Kanaya S., Ohnishi M., Murata T., Mori H. & Hayashi T. 2000. The R-type pyocin of *Pseudomonas aeruginosa*is related to P2 phage, and the F-type is related to lambda phage. *Molecular Microbiology* 38:213–231.

18. Nguyen H. A., Tomita T., Hirota M., Kaneko J., Hayashi T. & Kamio Y. 2001. DNA inversion in the tail fiber gene alters the host range specificity of carotovoricin Er, a phage-

tail-like bacteriocin of phytopathogenic *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Er. *Journal of Bacteriology* 183:6274-81.

19. Ochiai H., Inoue Y., Takeya M., Sasaki A. & Kaku H. 2005. Genome sequence of Xanthomonas oryzae pv. oryzae suggests contribution of large numbers of effector genes and insertion sequences to its race diversity. *Japan Agricultural Research Quarterly* 39:275–287.
20. Rebuffat S. 2012. Microcins inaction: amazing defences trategies of *Enterobacteria*. *Biochemical Society Transactions* 40:1456–1462.
21. Riley M. A., Cadavid L., Collett M. S., Neely M. N., Adams M. D., Phillips C. M., Neel J. V. & Friedman D. 2000. The newly characterized colicin Y provides evidence of positive selection in poreformercolicin diversification. *Microbiology* 46:1671–1677.
22. Riley M. A. & Chavan M. A. 2007. Bacteriocins: Ecology and Evolution.Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007.155p.
23. Riley M.A., Pinou T., Wertz J.E., Tan Y. & Vallett C.M. 2001. Molecular characterization of the klebicin B plasmid of *Klebsiella pneumonia*. *Plasmid* 45:209–221.
24. Riley M. A. & Wertz J. E. 2002a. Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives. *Biochimie* 84:357–364.
25. Riley M. A. & Wertz J. E. 2002b. Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annual Review of Microbiology* 56:117–137.
26. Roh E., Park T. H., Kim M. I., Lee S., Ryu S., Oh C. S., Rhee S., Kim D. H., Park B. S. & Heu S. 2010. Characterization of a new bacteriocin, Carocin D, from *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc21. *Applied and Environmental Microbiology* 76:7541-7549.
27. Simpson A. J. G., Reinach F. C. & Arruda P. 2000. The genome sequence of the plant pathogen Xylellafastidiosa. *Nature* 406:151–157.
28. Smarda J. & Obdrzalek V. 2001. Incidence of colicinogenic strains among human *Escherichia coli*. *Journal of Basic Microbiology* 41:367–374.
29. Van Sluys M. A., de Oliveira M. C. & Monteiro-Vitorello C. B. 2003. Comparative analyses of the complete genomesequences of Pierce's disease and citrus variegated chlorosis strains of Xylellafastidiosa. *Journal of Bacteriology* 185:1018–1026.
30. Wertz J. E. & Riley M. A. 2004. Chimeric nature of two plasmids of *Hafniaalvei*encoding the bacteriocinsalveicins A and B. *Journal of Bacteriology* 186:1598–1605.
31. Yamada K., Hirota M., Niimi Y., Nguyen H. A., Takahara Y., Kamio Y. & Kaneko J. 2006. Nucleotide sequences and organization of the genes for carotovoricin (Ctv) from Erwinia carotovora indicate that Ctv evolved from the same ancestor as Salmonella typhiprophage. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 70:2236–2247.
32. Yang S. C., HungLin C., Sung C. T. & FangJia Y. 2014. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers in Microbiology* 5:241.

دانش بیماری‌شناسی گیاهی سال پنجم، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۵

Plant Pathology Science Vol. 5(2), 2016

The Biological Role of Bacteriocins of Gram-Negative Bacteria

NAHID GERAYELI & SAREH BAGHAEE-RAVARI ✉

PhD Student & Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(✉Corresponding author, E. mail: s.baghaee@ferdowsi.um.ac.ir)

Received: 14.04.2015 Accepted: 03.11.2015

Gerayeli N. & Baghaee-Ravari S. 2016. The biological role of bacteriocins of gram-negative bacteria. *Plant Pathology Science* 5(2):63-70.

Abstract

Bacteriocins are a kind of antimicrobial peptides or proteins, produced by some gram-negative bacteria, for competition for space and resources, which can kill or inhibit closely-related bacteria. The producer bacterium is immune to these material by specific immunity proteins. Bacteriocins vary in size, microbial targets, mode of action and immunity mechanism. So far lots of bacteriocins that produced by specific isolates of gram-negative bacteria have been identified, which often have a high molecular weight. In this paper, mode of production, and mechanisms of action of bacteriocins, and their role in management of plants bacterial diseases, described.

Key words: Bacteriocin, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*