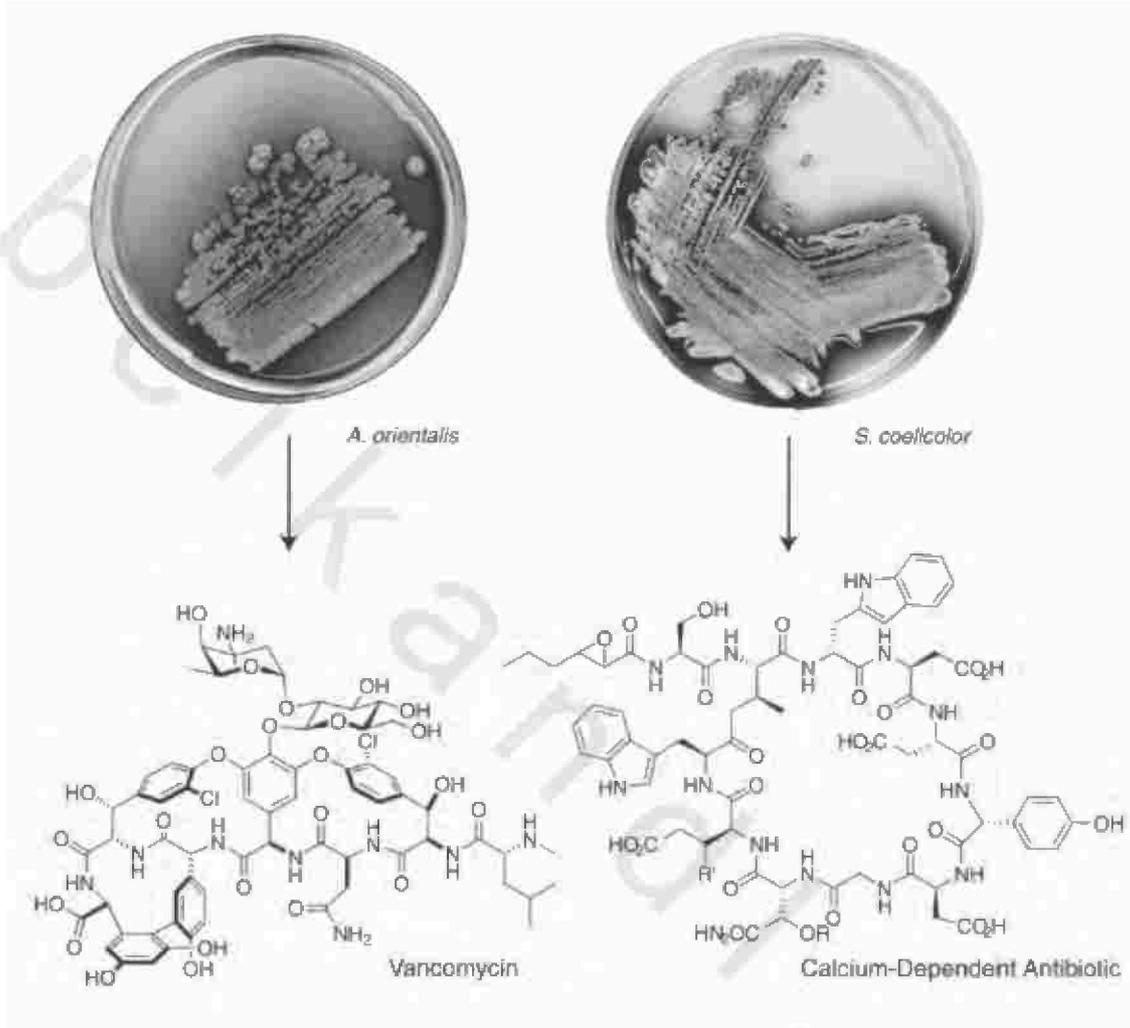


### البناء الحيوي للمضاد الحيوي ANTIBIOTIC BIOSYNTHESIS

في هذا الباب من الكتاب درسنا الإستراتيجيات للبناء الحيوي للأصناف الرئيسة من المضادات الحيوية. وتم شرح المنطق والماكينة للمضادات العطرية المشتقة - من البوليكيتيد والنموزجية في الفصل الثاني عشر. ويفحص الفصل الثالث عشر إستراتيجية تجميع - الخطوط الموازية لأصناف مضادات الببتيد غير الريبوسومية وتشمل بينيم (penem)، أوكسابينيم (oxapenem) وكارباينيم. ويتناول الفصل الرابع عشر سبل البناء الحيوي للأصناف الأخرى من المضادات الحيوية، وتشمل أمينوكيومارينات (aminocoumarins) وأمينوغليكوسيدات. البناء الحيوي لترپين (terpene) ومنتجات الكالويد (alkaloid) الطبيعية، البعض منها له فعالية مضاد حيوي لم تتم مناقشتها. يوجّه القراء إلى المجموعة متعدّدة الأجزاء (كيمياء المنتجات الطبيعية الشاملة) (*Comprehensive Natural Products Chemistry*) (بارتون وآخرون 1999) لهذه المواضيع وسيق أوسع من الجزئيات من الفصل الثاني عشر إلى الرابع عشر. وقدمنا هذا الباب مع الفصل الحادي عشر، والذي يلخص ما يعرف حول الجينات والبروتينات التي تتحكم بتوقيت صنع المضادات الحيوية في الكائنات المنتجة. وهذا متمم للفصل السابع، حيث تم فحص آليات الدفاع لمنتجي المضادات الحيوية عند مستوى البروتين. والبكتيريا من رتبة الفطار الشعبة (*Actinomycetales*) وبالتحديد عائلة المتسلسلات (*Streptomycetes*) ضمن تلك الرتبة، هي مولدات غزيرة للأسلحة الكيميائية ضد جيرانها، وتنتج ما يقدر بنحو ١٢,٠٠٠ مضاد حيوي طبيعي معروف (تشامبنيس 2000). ومسارات الإشارة الجزيئية التي قد يدئ بفك شفرتها في المتسلسلات، وبالأخص في المتسلسلة كوليكولر (*Streptomyces coelicolor*)، يحتمل بأن تكون منافع عامة لتحليل المنطق لمنتجي المضاد الحيوي.



أميكولاتوبسيس اوريينتالاز (*Amycolatopsis orientalis*) منتج الفانكوميسين، والمتسلسلة كوليكلور، منتجة المضاد الحيوي المعتمد-على الكالسيوم.

## تنظيم البناء الحيوي للمضاد الحيوي في الكائنات المنتجة REGULATION OF ANTIBIOTIC BIOSYNTHESIS IN PRODUCER ORGANISMS

### تنظيم إنتاج المضاد الحيوي في المتسلسلات

من مضادات السيكا (circa) الـ ١٢,٠٠٠ الحيوية المعروفة، قد قُدر أن بعض ١٦٠ ما زالوا أو قد كانوا في الاستعمال السريري للإنسان. المتسلسلات، البكتيريا الموجبة - لغرام الخيطية، مسئولة عن إنتاج حوالي ٥٠٪ من هذه المضادات الحيوية الهامة تجارياً (تشامبنيس 2000, Champness).

الجدول (١١.١) يلخص ٢٦ من الأمثلة، تشمل كل من بوليكتيد (عديد الكيتيد) الدورية الكبيرة (macrocyclic) والعطرية، البيبتيدات غير الريبوسومية، بيتا لكتامز، تراكيب بوليكتيد - بيتيد الهجين، كيومارينات وبوليبيرولات (polypyrroles)، التي تختلف في التراكيب وطرق العمل المضادة للبكتيرية. عديد من المركبات في هذا الجدول شرحت بالتفصيل في الفصول الأخرى من هذا الكتاب. ومضادات المتسلسلات والشعيات الحيوية هذه تشترك في سمة عامة بأن بناءهم الحيوي غالباً ما يكون منسقاً بشكل مؤقت مع التغييرات الأخرى في مورفولوجيا (أشكال) المستعمرة، وبالتحديد التغييرات التطورية التي تشمل الفطور الغصينية الهوائية (aerial mycelia) وتكوين الأبواغ (spore formation) (انظر بب وآخرون 2000, Bibb et al., والمراجع فيه، تشاكراپورتى وبب Chakraburty and Bibb, 1997). الظروف المتنوعة، وتشمل الغذاء المحدود، يستطيع أن يبدأ كل من برامج التطورية وإنتاج المضاد الحيوي، ولقد أصبح واضحاً بوجود شبكات من الإشارات التنظيمية والنظم التي تتقاطع وكذلك تجري بالتوازي. إن فهم ماكينة (آلات) تنظيم جين المضاد الحيوي سوف تزيد فرص التعزيز العقلاني والتحكم بمستويات المضاد الحيوي وتساعد في الحصول على سبل بناء حيوي مجتمعة لتوظف في جسم الإنسان.

## الجدول (١١، ١). مضادات الشبكات الحيوية المتفاعة.

المضاد الحيوي	المنتج	الصف ١	الهدف ٢	الاستعمال
أفيرمكتين (Avermectin)	المتسلسلة أفيرميتيلس	ماكروليد (PK)	قنوات أيون الكلوريد	مضاد للطفيليات
بليوميسين (Bleomycin)	"المتسلسلة فيرتيكليس"	غليكوبيبتيد (بيتيد سكري)	كسر خيط دنا	مضاد للورم
كلورامفينيكول	المتسلسلة فيتزويلي	إن-دايكلورأسيل فيتيل بروبانويد	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
كلوروتراسيكلين	المتسلسلة أوريوفاسينس	تتراسيكلين (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
حامض الكلافولينيك	المتسلسلة كلافوجيريس	بيتا لكتام	مثبط للبيتالكتاماز	يتحد مع بيتالكتام مكثف بكتيري
دابتوميسين (Daptomycin)	المتسلسلة روزيوبوروس	ليبوبيبتيد (بيتيد دهني)	؟ حامض ليبوتيكويك	مضاد بكتيري
دونوروميسين (دونوميسين) (Daunorubicin) (daunomycin)	المتسلسلة يوسيتيكس	أنتراسيكلين (Anthracycline)(PK)	إفحام دنا	مضاد للورم
إريثروميسين	سكاروميسس إريثري	ماكروليد (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
FK506 تاكروليمس (tacrolimus)	المتسلسلة هيجروسكوبيكس	ماكروليد (PK)	يرتبط مع بروتين FK	مثبط للمناعة
فوسفوميسين	أنواع المتسلسلة	حامض الفوسفونيك	بيتيدو غليكان	مضاد بكتيري
جنتاميسين	أنواع ميكروموتوسورا	امينو غليكوسيد	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
كاناميسين	المتسلسلة كاناميسيتيكس	امينو غليكوسيد	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
ميثوميسين C	المتسلسلة كاسيتوسس ، المتسلسلة فيرتيكولانس	بنزوكوينون	ربط - تصالبي ل دنا	مضاد للورم
نوكاردسين (Nocardicin)	النوكارديا ينفورميس	بيتالكتام	بيتيدو غليكان	مضاد بكتيري
نوسيهبتيد (Nosiheptide)	المتسلسلة أكتوسس	ثيوببتيد	رباط الريبوسوم	محفز النمو
نوفوبوسين	المتسلسلة نيفيس	كيومارين غليكوسيد	ناد غيراز (الوحدة الفرعية - β)	مضاد بكتيري
أولياندوميسين	المتسلسلة أنتيبوتيكس	ماكروليد (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
أوكسيتراسيكلين	المتسلسلة ريموسس	تتراسيكلين (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
بريستيناميسين	"المتسلسلة" بريستينيسبيراليز"	ماكرولاكتون بيتيدي + عديد الماكرولاكتون غير مشبع (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
ريفاميسين	أميكولاتوميسين المتوسطة Amycolatopsis (mediterranei)	أنساميسين (PK)	RNA بوليميراز	مضاد بكتيري (الدرن والجذام)
تيكوبلانين	أكتينوبلانيس تيكوميسيتيكس	غليكوبيبتيد (بيتيد سكري)	بيتيدو غليكان	مضاد بكتيري

تابع الجدول (١١،١).

المضاد الحيوي	المنتج	الصفة <sup>١</sup>	الهدف <sup>٢</sup>	الاستعمال
تتراسيكلين	المتسلسلة أوريوفاسينس	تتراسيكلين (PK)	ربط الريبوسوم	مضاد بكتيري
ثيناميسين	"المتسلسلة كاتليا"	بيتالاكتام	البيتيدوغليكان	مضاد بكتيري
تيلوسين	المتسلسلة فراديي ( <i>S. fradiae</i> )	ماكروليد (PK)	ربط الريبوسوم	محفز النمو
فانكوميسين	أميكولاتوبسيس اورينتاليز	غليكوبيتيد	البيتيدوغليكان	مضاد بكتيري
فرجينياميسين (Virginiamycin)	المتسلسلة فرجينبي ( <i>S. virginiae</i> )	لاكتون حلقي كبير (PK) + بيتيدولاكتون حلقي كبير	ربط الريبوسوم	محفز النمو

(<sup>١</sup>) PK: بوليكتيد (٢) ربط الريبوسوم يثبط بناء البروتين مقتبس بالإذن من كيسير وآخرون 2000, Kieser et al.

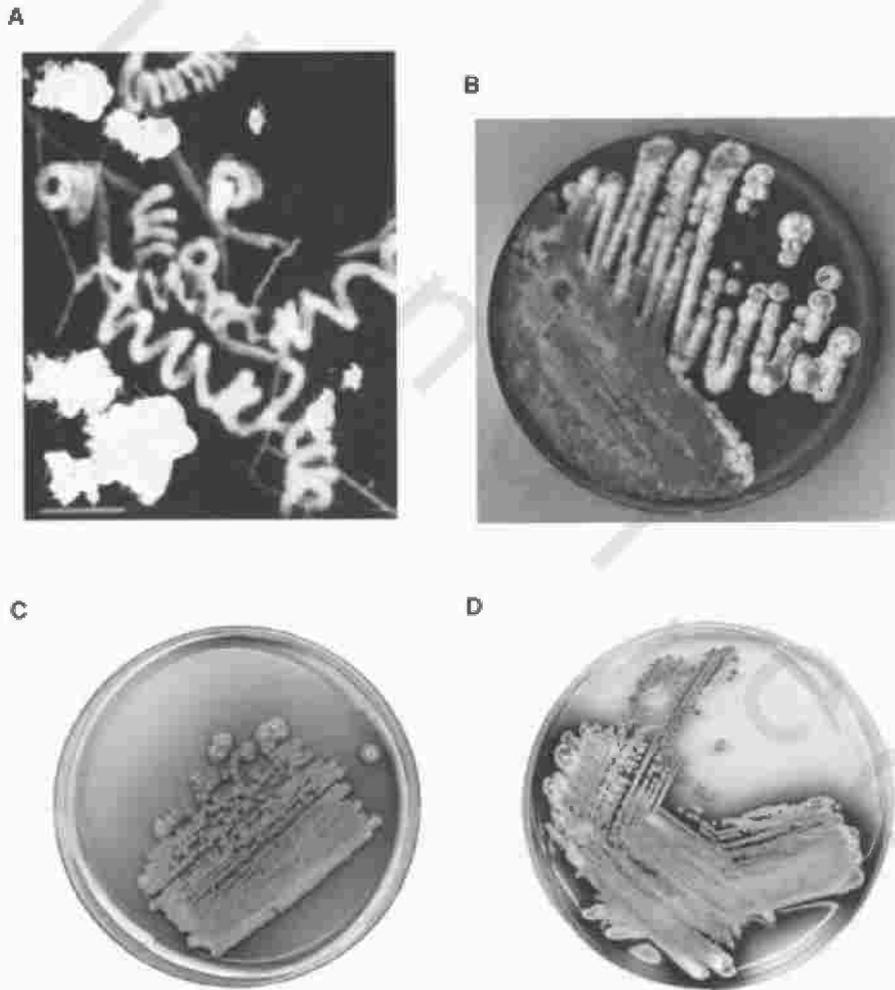
الشكل (١١،١) يظهر الصور المجهرية لمزارع المتسلسلة أفيرميتيليز (*Streptomyces avermitilis*) متجي أفيرميكتين (avermectin)، المتسلسلة كلافوليجريس (*Streptomyces clavuligerus*)، منتج كلافولينيت، أميكولاتوزيز اورينتاليز (*Amycolatosis orientalis*) منتج فانكوميسين، المتسلسلة كوليكولور، الكائن المضيف للعديد من الطرق المأشوبة (recombinant) نحو البناء الحيوي المجتمع، شرح في الفصلين الثاني عشر والسادس عشر.

لقد كانت المتسلسلات المنتجة للعديد من مختلف المضادات الحيوية ذات قيمة في شرح بعض المنطق الجزئي الذي يتحكم في التوقيت وكميات إنتاج المضاد الحيوي، مستعملاً الحواجز الوراثية للتأثير على إنتاج المضاد الحيوي كطريق مثمر لتحديد هوية ووظيفة الجين. في الوقت الحالي يوجد بعض الفهم لطبقتين من الشبكات المنظمة والأولى تستعمل عنصرين مستشعر كيناز/وماكينة منظم الاستجابة للتنظيم العالمي والثاني يستعمل جزيئات نصاب/ الاستشعار الذي ينتقل بين الخلايا ولقد سميت "هورمونات" المتسلسلات لمسار- نوعي للتنظيم (تاكانو وآخرون 2000, Takano et al., Yamada and Nihara, 1999).

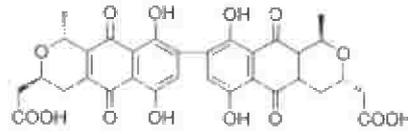
التسلسل لمجين *S. coelicolor* قد تم تحديده حديثاً (بينتلي وآخرون 2002, Bentley et al.) ووجد أن يحتوي على ٧,٨٢٥ جينات مفترضة، تقريباً ضعف محتوى جين الإشريكية القولونية (٤,٢٨٩) العصية الرقيقة (٤,٠٩٩). تناسباً مع المجين الكبير والإظهار الانتقائي للمجين في تربة بيئات جلدية يوجد عدد هائل من الجينات المنظمة، ٩٦٥ جينات تمثل أكثر من ٢٥٪ من الجينات. وتشمل هذه ٦٥ عناصر  $\sigma$  التي تتحكم في نوعية تمييز المحرض لللب الوحدات الفرعية لونا بوليميراز (RNA polymerase) ليسمح بالانتساخ الانتقائي لمجموعات من الجينات وعلى الأقل ٥٣ زوج من ثنائي المكونات من مستشعر كيناز عبر الغشاء / منظمات الاستجابة لانتساخ الجين استجابة للإشارات الخارجية. ويفترض بأن عشرين من مجموعات الجينات التي تشفر الإنزيمات التي تعمل في المسارات الأيضية الثانوية، وتشمل

بعض المضادات الحيوية من الشكل (١١،٢). والعديد من مجموعات جينات هذه المنتجات الطبيعية الثانوية توجد في الخارج على حافة كروموسوم *S.coelicolor* الخيطي ويعتقد بأنها أضيفت للكروموسوم اللب- المشفر الوظيفة (بينتلي وآخرون 2002، Bentley et al.). المواضع المحيطية لكروموسومات المتسلسلة الأخرى قد تكون مواقع لجينات بناء حيوي للمضادات الحيوية الإضافية.

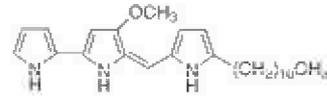
المثال الثاني للبكتيريا التي تستعمل إشارات النصاب للبناء الحيوي لجين المضاد الحيوي هي مُمرض النبات إروينيا كاروتوفورا (*Erwinia carotovora*)، التي تنظم تجميع الكاربابينيم، كما سنلاحظ في نهاية الفصل (سويفت وآخرون 1996، Swift et al.).



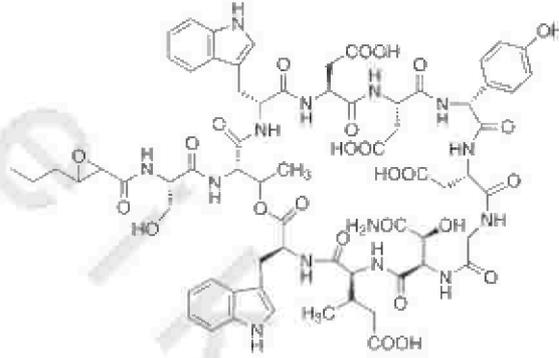
الشكل (١١،١). (A) المتسلسلة ألفرميتيليس (بالإذن من ميادوه وآخرون 1997، Miyadoh et al.)، (B) المتسلسلة كلافلوجريس (بالإذن من www.cbs.umn.edu/asirc، © ١٩٩٧)، (C) كولوفوبسيس أوريتاليز، (D) المتسلسلة كوليكولور.



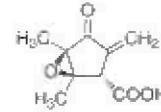
Actinorhodin



Undecylprodigiosin



Calcium-Dependent Antibiotic



Methymycin

الشكل (١١،٢). تراكيب الأيضات الثانوية المنتجة بواسطة المتسلسلة كوليكولر.

### المنظمين العالميين لإنتاج المضاد الحيوي في المتسلسلة كوليكولر (*S.coelicolor*):

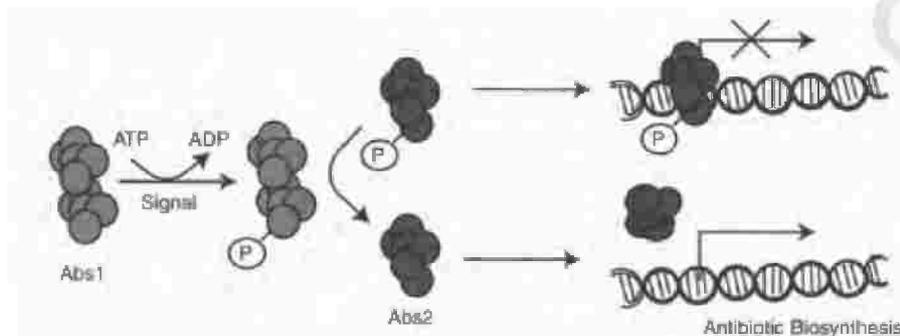
#### المنظمين ذوي-الشقين (two-component regulators)

من تسلسل مجين المتسلسلة كوليكولر، يمكن للمرء تحديد مجموعات الجينات للمضادات الحيوية الأربعة المعروفة من هذه البكتيريا: أكتينورودين (actinorhodin) (بوليكيتيد)، أنديسيلبروديجيوسين (undecylprodigiosin) (بوليكيتيد-بوليبيرول مهجن) (hybrid polyketide-polypyrrole)، المضاد الحيوي -المتعمد على الكالسيوم (CDA) (بيتيد غير الريبوسومي)، وميثيلينيميسين (methylenemycin) (بوليكيتيد) (الشكل ١١،٢). وقد كشفت الفحوصات الوراثية عن طفرات عند الموضع *abs* الذي يعاني من نقص الإنتاج لجميع المضادات الحيوية الأربعة، كما لو أن الشبكة العالمية التنظيمية كانت مسدودة. وبين رسم الخرائط وتحليل التسلسل اثنين من بروتينات *Abs*، *Abs1* و *Abs2*، التي هي قريبة من مجموعة CDA جين البناء الحيوي (انظر بب 1996). وللزوج *Abs1-Abs2* جميع سمات التسلسل المتباً لنظام الشقين-اللاثنين التنظيمي المعياري مع *Abs1* هيستيدين كيناز عبر الغشاء و *Abs2* المحتوي على-أسبارتيت منظم الاستجابة (aspartate-containing response regulator) الذي يحدث له فسفرة بواسطة الشكل فوسفو-هيس (phospho-His form) من *Abs1*. والشكل فوسفو- *Asp* من *Abs2* هو منظم سالب للجينات المستهدفة، التي تشمل مسار المضاد الحيوي -عناصر انتساخ نوعية التي سوف تُشرح أدناه. وهكذا في غياب بعض الإشارات على العكس من ذلك الوضع المتخلف (الافتراضي) هو أن *Abs2* يتفسر ويحتفظ بانتساخ الجينات المستهدفة

ليتحكم بجينات، كتلة البناء الحيوي للمضاد الحيوي المغلقة (الشكل ١١،٢). كما أن هوية الإشارة ليست معروفة إلى الآن، وربما تكون ربيطة (ligand) للحقل الخارج الخلية أو عبر الغشاء لـ Abs1 الذي يحول هذا النظام الثنائي المكونات من الإيقاف إلى التشغيل ويربح كبت الجين. والتكهنتات المعقولة التي تعتمد على منطق النظام الثنائي- المركبات الآخر، هو أن الاستجابة للإشارة غير المعروفة هو أن تبديل Abs1 من وضع كيناز إلى وضع فوسفاتاز، محرضاً التحلل المائي لـ P-Asp-Abs2 إلى الشكل ديفوسفو (منزوع الفوسفو) (dephospho form) (الشكل ١١،٣)، مع فقدان الجذب الربط لاستهداف مناطق حفازات الجين، وإطلاق dephospho-Abs2 الذي سوف يسمح بالشروع في انتساخ الجين المستهدف.

ربما لا يكون زوج Abs1-Abs2 المنظم الوحيد عالمياً الذي يتحكم بتوقيت إظهار الجين البنائي الحيوي للمضاد الحيوي في هذه وفي المتسلسلات الأخرى. وعلى سبيل المثال، يوجد Abs2 مشابه (مناظر)، RedZ، في تجمع أنديسيلبروديجيوسين (undecylprodigiosin).

وكذلك، زيادة إظهار لزوج ثنائي المكونات آخر، AfsQ1-AfsQ2، سيكون بديلاً. كما أن طرد (خروج) Abs سيؤدي إلى الإنتاج المبكر لجميع مضادات المتسلسلة كوليكلورال الحيوية في غضون ساعات إلى أيام وبكميات تصل إلى ٦٠- ضعف أعلى من الطبيعي، معتمدة على ظروف التزريع. وهناك تكهنتات بأن التحكم بتوقيت إنتاج المضاد الحيوي بواسطة الحاصرة الفطرية الغصينية (mycelial mat) وربما يكون من المهم عدم التدخل في التنفيذ الناجح لبرنامج التطوير، مثال، إنتاج الأبواغ بواسطة الخيوط الفطرية الهوائية (aerial hyphae). تأخير إنتاج الببتيد الدهني CDA المكوّن-للمسام، على سبيل المثال، قد يكون مهماً لتجنب الانسمام الذاتي. والنظام الثنائي- الشقين الثالث، جينات *cutS* و *cutR*، يعمل كذلك في التنظيم السالب لإنتاج المضاد الحيوي (تشانج وآخرون، Chang and Roth, 1996)، مما يقترح وجود عدة نقاط تقاطع للاستشعار البيئي وإظهار جينات البناء الحيوي للمضاد. وتوفر تسلسل مجين المتسلسلة كوليكلورال سوف يسمح الآن بالتحليل المنهجي لدور كل من الـ ٥٣ نظام الثنائي- المكونات في إنتاج المضاد الحيوي.

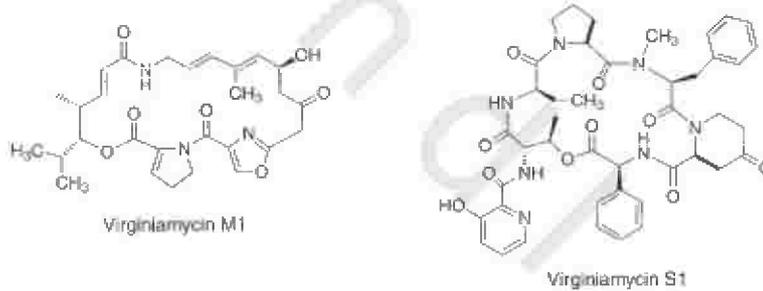


الشكل (١١،٣). المنطق التنظيمي لثنائي المكونات للتحكم بانتساخ جين المضاد الحيوي بواسطة Abs1 و Abs2 في المتسلسلات.

## مسار المضاد الحيوي - التنظيم النوعي في المتسلسلات

## بواسطة بيوتانيوليدات (butaneolides)

التحليل الأكثر شمولاً لتنظيم مسار المضاد الحيوي المحدد، خطوة واحدة إلى الأسفل من النظمين العالميين Abs من المحتمل في المتسلسلة فيرجيني في إنتاج المضادين الحيويين فيرجينياميسين (virginiamycin M1) و فيرجينياميسين S1 (virginiamycin S1) (الشكل ١١،٤). ولقد تم عزل فيرجينياميسينات مرات متعددة كما أن فيرجينياميسين M1 قد كانت معروفة بريستنسناميسين IIA (pristinamycin IIA) وستربتوجرامين A (streptogramin A) A. وجزء M1 هو ماكرولاكتون الذي يعدُّ هجيناً للبوليكيتيد مع شطر أوكسازوليل-زوليل المشتق من ثنائي البيبتيد. المكون S1 هو بيتيد سداسي حلقي مع لاكتون أو رابطة ديسيببتيدي بين  $\text{Thr}_1$  و  $\text{PheGly}_6$ . و  $\text{Thr}_1$  له أريل-إن-كاب (aryl-N-cap) مثالياً مع إستراتيجيات بدء السلسلة في مضادات البيبتيد الحيوية غير الريبوسومية. ولقد تم توضيح مجموعة الجينات لزوج بريستنسناميسين المشابه الذي يشكل التوليفة المضادة البكتيرية سينيرسيد (انظر الفصل الرابع) (بودزدوجان وليسليرك 1999، Bozdogan and Leclercq، سلطاني وآخرون 2001، Sultani *et al.*). المنطق الإنزيمي لتكوّن (البناء) الحيوي مثل هذا البيبتيد وخليط مضادات بوليكيتيد/بيبتيد الحيوية تم فحصه في الفصل الثالث عشر.



الشكل (١١،٤). تراكيب مضادات فيرجينيا ميسين الحيوية.

## جزينات الإشارة بيوتانيوليد (Butaneolide)

إن التحكم في إنتاج فيرجينياميسينات في المتسلسلة فيرجيني (*S. virginiae*) مضادات النيوكليوسيد الحيوية شودوميسين ومينيميسين (Showdomycin and minimycin) في المتسلسلة لافينديولي (*Streptomyces lavendulae*)، المضادات الحيوية الأربعة من المتسلسلة كوليكولر (انظر "إنتاج المضاد الحيوي في المتسلسلات" أعلاه)، دونورويسين (daunorubicin) في المتسلسلة بيوسيتس (*S. peucetius*) وغيرها العديد من مضادات المتسلسلة المشكوك بها من الجدول (١١،١) متواسطة بواسطة تفاعل بروتينات انتساخ كابتة معينة مع روابط صغيرة نافذة للخلية، البيوتانيوليدات. لاحقاً في هذا الفصل وفي أماكن أخرى من هذا الكتاب (مثل الفصل الخامس عشر) نلاحظ بأن البكتيريا السالبة-لغرام تستعمل إن-أسيل هوموسيرين لاكتونز (*N*-acyl-homoserine lactones (*N*-acyl-HSLs)) كجزئيات تأثير

نافذة- للخلية التي تعكس تراكيزها كثافة الخلية البكتيرية وذلك تعمل كمستشعرات النصاب. والجزيئات التي يرجح أن تكون بمثابة مستشعرات نصاب متكافئ في البكتيريا المتسلسلة الموجبة- لغرام هي  $\gamma$ - بيوتايرولاكتونات ( $\gamma$ -butyrolactones)، الأكتونات ذوات الخمس- حلقات المماثلة ل acyl- HSLs ولكن تفتقر لمجموعة أمينو (الشكل ١١.٥). السلسلة الجانبية راهبة الماء من البيوتايرولاكتونات، كذلك تعرف جنسياً بالبيوتانيوليدات، وهي في نفس الموضع مثل شطر N- أسيل لنصاب الجزيئات السالبة- لغرام. هناك اختلافات في طول السلسلة الجانبية وبالتحديد في حالة الأكسدة والكيمياء المُجسمة (الكيمياء الفراغية) (stereochemistry) للبدليل ٦-أوكسو من البيوتانيوليدات بين أنواع المتسلسلة (يامادا ونهارا 1999 Yamada and Nihara). وفي العنصر بيوتانيوليد- A (A-factor butaneolide) للمتسلسلة جريسيس، هو كيتون، في النوع Im2- بيوتانيوليد من المتسلسلة لافينديولي، وهو  $6\text{-}\beta\text{-OH}$ ، بينما في المتسلسلة فيرجيني، هو  $6\text{-}\alpha\text{-OH}$  (الشكل ١١.٦). البناء الحيوي لبدائل بيوتايرولاكتوز هذه من الأرجح أن ينشأ بواسطة التكتيف الإنزيمي لأيضات الكربونات الثلاث الأولية ثنائي هيدروكسي أسيتون- P (dihydroxyacetone -P) حيث يهاجم  $\text{C}_1\text{-OH}$  مجموعة كربونيل المنشطة لثيوإستر  $\beta\text{-keto-acyl-S-CoA}$  أو  $\beta\text{-keto-acyl-S-ACP}$  (أسيل حامل البروتين). هذا الوسيط سيمر بعد ذلك بتكتيف ألدول (aldol) داخلي جزئي، تجفاف، واختزال إينون (enone reduction) لتسفر عن حالة أكسدة ٦- كيتو التي توجد في عنصر A- للمتسلسلة جريسيس (الشكل ١١.٧). إنزيم ريدكتاز التجسمي النوعي (stereospecific reductase) من شأنه أن يتحكم في الإنتاج الآحق لمتغيرات ٦- ألفا و ٦- بيتا التجسمية الكيميائية (يامادا ونهارا 1999 Yamada, and Nihara).

هذه الجزيئات الصغيرة التي تنتجها خلية واحدة يمكن أن تنتشر إلى داخل خلية المتسلسلة المجاورة بطريقة تعتمد على كثافة الخلية وتستطيع أن تكون معقد مع البروتين المستقبل داخل الخلية مع انجذاب يبلغ جزءاً من بليون من المول (nanomolar). وفي المتسلسلة لافينديولي البروتين الشريك ل ٦- بيتا- بيوتانيوليد هو المستقبل ArpA بينما في المتسلسلة فيرجيني يرتبط ٦- ألفا- هيدروكسي بيوتايرولاكتون ( $6\text{-B-hydroxybutyrolactone}$ ) يرتبط بمستقبلات BarA المناظرة (الشكل ١١.٦).

تعدُّ عناصر الانتساخ النوعية- لمسار المضاد الحيوي FarA, ArpA, BarA قوامع انتساخ في غياب ريبطات بيوتانيوليد (butaneolide ligands). وعلى سبيل المثال، يجلس BarA على مواضع التحريض ويفقداهم. يعفَى التنظيم السالب عن ربط بيوتانيوليد؛ بسبب أن للمعقد انجذاب أقل لدنا ويهبط بعيداً، ومن ثم يتوقف القمع ويمكن للانتساخ الجين بالبدء.

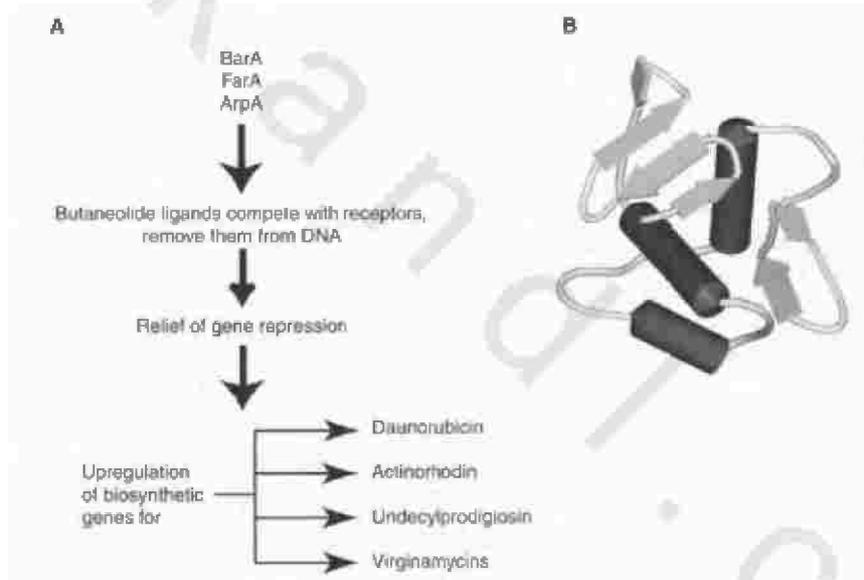


الشكل (١١.٥). مقارنة اكتمال نصاب جزيئات الاستشعار.



## تحقيق تكامل الدائرة التنظيمية لإنتاج المضاد الحيوي في المتسلسلات

لقد حدد التحليل الوراثي (الجيني) أحد أهداف البروتين القامع (الكابت) BarA مثل الجين *vmsR* و *vmsR* له نواظر في مسارات-المتسلسلة الأخرى-المنتجة للمضاد الحيوي: *dnrI* للدونوروبوسين، *actII-orf4* لأكتينورودين (actinorhodin)، و *redD* لكتلة أنديسيبروديجيوسين (undecylprodigiosin) (كواتشي وآخرون 2000، Kawachi et al.). ولقد تم وصف منتجات البروتين لهذه الجينات المستهدفة بـ SARP (البروتينات التنظيمية لمضادات المتسلسلة) (*Streptomyces antibiotic regulatory proteins*) (تشامبينس 2000، Cha mpness, 2000) وجميعها مناظرة لعناصر الاشريكية القولونية الانتساخية والبروتين الرابط لـ DNA، OmpR (الشكل ١١.٨). ويتمي OmpR لعائلة كبيرة من عناصر الانتساخ تسمى عائلة "الحلزون المَجَنَح - دورة - الحِلْز" "winged helix-turn-helix" (مارتينيز-هاكيرت وستوك 1997، Martinez-Hackert and Stock, 1997، مارتينيز-هاكيرت وآخرون ١٩٩٦ م).



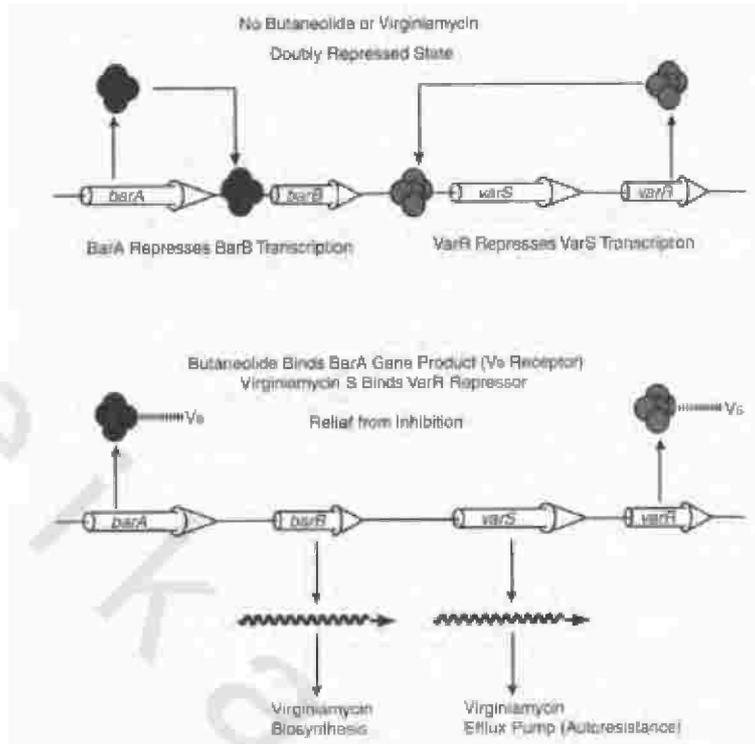
الشكل (١١,٨). (A) تعبير SARP نواظر لـ OmpR، (B) تركيب عنصر انتساخ OmpR.

ومع البروتين الحساس المرافق له EnvF، يعد OmpR مكون الجين التنظيمي لنظام الشقنين الاثنين EnvF-OmpR الذي يتحكم في إظهار المسامات البكتيرية الخارج الخلية استجابة للتغيرات في التناضحية (osmolarity) الخارجية. ويزيد فوسفو-OmpR مع الزيادة في التناضحية ويرتبط بأكثر إحكام مع حفاز جيناته المستهدفة، ليقمع انتساخ *ompF* ويفعل انتساخ *ompC*. ومن المحتمل بأن SARP له أساليب بناء مقارنة بتلك في OmpR وتميز حفازات الجين المستهدف بنفس الطريقة، بواسطة فعل حقل نهاية N- (N-terminal domain) المفسفر بواسطة الشكل فوسفو من حساس كيناز المرافق وحقل نهاية-C الذي يرتبط بـ DNA الذي له انجذاب للهدف DNA معدل بواسطة حالة فسفرة حقل نهاية-N.

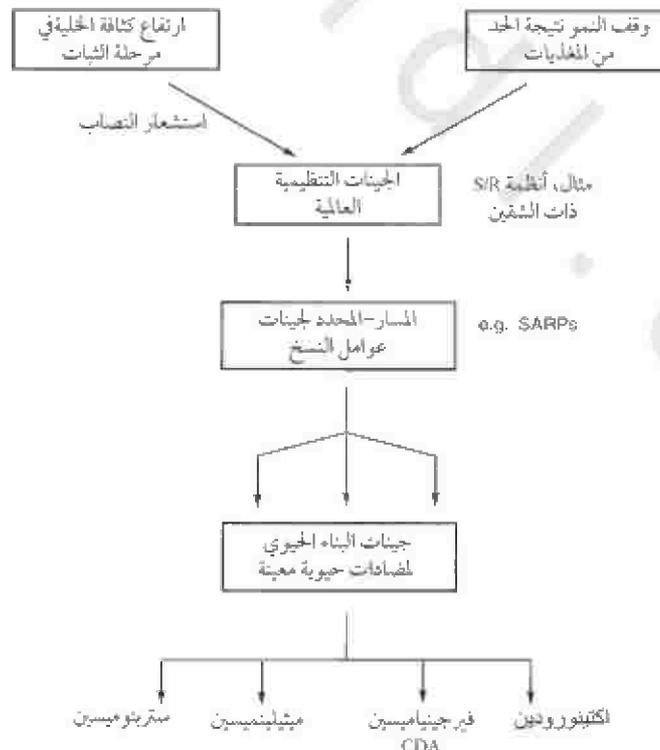
عندما ينتج البروتين VmsR بواسطة زيادة انتساخ جين *vmsR*، تكون النتيجة النهائية زيادة بناء كل من فيرجينياميسين M1 و S1. وسواء عمل VmsR مباشرة على جينات ببتيد سينثيتاز غير الريبوسومي وبوليكتيد سينثيتاز التي ترمز مباشرة إنزيمات تجمع المضاد الحيوي أو ما إذا وجدت طبقة ثالثة من دائرة البروتين التنظيمي لا يعرف بعد. ويعدُّ *vmsR* نوعي لمسار المضاد الحيوي وليس لأي من مسارات التطويرية المنظمة المعاصرة بسبب أن النمط الظاهري للحسم (الضربة الحاسمة) نوعي لإنتاج فيرجينياميسين (كواتشي وآخرون 2000, Kawachi et al.). وبشكل مماثل، بروتين ArpA من المتسلسلة جريسييس في غياب ريبطة 6- كيتو بيوتانيوليد يجمع إظهار مختلف الجينات. عندما يعاير نصاب-استشعار الريبطة ArpA خارج تنالي محفز دنا، يوجد ضمن جينات أسفل التيار المنتسخة كتلة جين بنائية حيوية لمضاد أمينوغليكوسيد سترينوميسين (يامادا ونهارا 1999, Yamada, and Nihara) (انظر الفصل الرابع عشر). من المحتمل بأن تكون الطبقات الاثنتين لتنظيم جين المضاد الحيوي في المتسلسلات، هي المستوى العالمي التي تأثرت بواسطة الشقين الاثنتين الاستشعار / المنظمات ومسار SARP النوعي لكل كتلة (مجموعة) مضاد حيوي، ستكون قابلة للتعميم وتستعمل منطق جزئي لتستقبل مشعرات من البيئة عن متى تبدأ تشغيل إنتاج المضاد الحيوي. ذكرنا في الفصل السابع مختلف الأمثلة عن الآليات التي بواسطتها يزود منتج المضاد الحيوي المناعة لذاتهم، ويشمل تنسيق البناء مع تصدير المضادات الحيوي للمحافظة على تركيز المضاد الحيوي داخل الخلية تحت الحد المثبط للنمو.

التنظيم المؤقت لإنتاج وتصدير المضاد الحيوي يتمثل كذلك في قرين المتسلسلة فيرجيني BarA. ومباشرة تحت تيار barA و barB، يوجد اثنتين من الجينات *varS* و *varR*. ويبدو بأن بروتين *varS* هو مضخة تدفق فيرجينساميسين، مانحاً مقاومة ذاتية لمنتج المضاد الحيوي بواسطة المحافظة على تركيز داخل الخلية لهذا المضاد الحيوي المستهدف للريبوسوم منخفضاً. وهذه القدرة اكتسبت فقط في الوقت المناسب بواسطة زيادة انتساخ *varS* بواسطة إراحة القمع بواسطة منتج الجين المجاور *varR*، المماثل للقامع TetR (انظر الفصل التاسع). في غياب الريبطات - ذات الجزئيات الصغيرة (Vb بيوتانيوليد ل BarA و فيرجينياميسين S ل VarS)، وبروتينات BarA و VarR تصبح مثوية (dimerize) وترتبط بمواضع التحفيز في *barB* و *varS*، لتبقي الانتساخ عند مستويات قليلة أو منعدمة. وعندما يرتفع تركيز Vb بيوتايرولاكتون (زيادة كثافة الخلية) ليشبع BarA ويستطيع جزيء فيرجينياميسين S أن يرتبط مع VarR، ويخرج كل من معقدات القامع- الريبطة من مواضع تحفيز دنا الخاصة بها ويرتفع انتساخ *barB* و *varS*. وهناك حاجة ل BarB للبناء الحيوي لفيرجينياميسين، بينما يعدُّ VarS مضخة التدفق التي سوف تسهل تصدير المضاد الحيوي عندما يتم إنتاجه (الشكل ١١.٩).

أشارت الدراسات حول مجموعة البناء الحيوي للمتسلسلة فرادبي (*Streptomyces fradiae*) للميكروبيد تيلوسين العضوية-١٦ (انظر الفصل الرابع عن آلية العمل والشكل ٤.٣ عن التركيب) (ستراتيجيوبولوس وكوندليف Stratigopoulos and Cundliffe, 2002) بأن مجموعة ٤٣- جين هذه التي تشمل 58 kb من دنا، لها خمسة جينات تنظيمية محددة، *tylP*، *tylQ*، *tylR*، *tylS* و *tylT* ثلاثم (PARADIGM) لتنظيم المتسلسلة التي ذكرت سابقاً لصنف فيرجينياميسين. ويعتقد بأن بروتين TyIP هو استشعار- نصاب مستقبل ويعتقد بأن بيوتانيوليد ومعقد الريبطة- المستقبل يرتبطا عند تتالي دنا مباشرة أمام جين *tylQ*، منهيًا إنتاج TyIQ. والانخفاض في TyIQ يريح قمع انتساخ بروتين TyIR، الذي يعدُّ منظماً عالمياً. وهذا يفعل إظهار جينات *tylS* و *tylT* لتنتج البروتينات TyIS و TyIT، التي تعتبر SARP التي تبدأ تشغيل انتساخ بعض من جينات *tyl* بوليكتيد سيتيثاز، وجينات البناء الحيوي منزوع الأكسجين (*tyl* (deoxysugar)، المطلوبة لبدء تجمع تيلوسين. الخاصية الجديدة في تنظيم مجموعة جين تيلوسين هي الاكتشاف بأن TyIQ هو القامع الذي عند المستويات العالية في خلايا المتسلسلة فرادبي قبل أن ينتج التيلوسين وينتهي كإشارة مفتاح للمنظم العالمي كما أن انتساخات جين SARP لتبدأ. والإشارة لقفل انتساخ *tylQ* لم تحدد بعد. وهكذا فالتخطيط لتنظيم إظهار جين البناء الحيوي للأصناف الرئيسة لمضادات المتسلسلة الحيوية (بوليكتيد، البيبتيدات غير الريبوسومية، والأمينوغليكوسيدات) يبدأ بالتشكل. إن توفر كامل تسلسل الجين للمتسلسلة كوليكولرسوف يسهل الفهم التفصيلي لكامل الشبكة التنظيمية مع التسلسل الهرمي ونقاط العقد لإشارة التكامل في المستقبل القريب. والآن بالإمكان القول بأن الإشارات الخارجية، وتشمل حدود الغذاء وما يلازمه من ببطء النمو أو توقفه من ناحية وكثافة الخلية المعتمدة على - مستويات جزئيات إشارة بيوتانيوليد من ناحية أخرى، والأثر على مجموعة من الجينات التنظيمية العالية، بعضها سوف يُشفر (يرمز) نظم الاستشعار / الاستجابة ذات - الشقين (الشكل ١١.٩). وبدورها، فهذه سوف تتحكم في التفعيل الانتساخي لعناصر الانتساخ النوعي - لمسار المضاد الحيوي التي سوف تسرع تنظيم الإظهار الانتساخي لمجموعة إنزيمات البناء الحيوي لتنتج لوحة (مجموعة) متنوعة من تراكيب المضاد الحيوي (الشكل ١١.١٠) (بيب 1996). وبالإمكان التوقع أيضاً بأن تنظيم الإظهار للعديد من جينات الوحدة الفرعية σ (٦٥ في المتسلسلة كوليكولر) من رنا بوليميراز سوف يكون جزءاً من الاستجابة المتكاملة. وأظهرت الدراسة على المتسلسلة ليفيدانس (*Streptomyces lividans*) طفرات مقاومة- ريفاميسين رنا بوليميراز في الوحدة الفرعية بيتا التي أصبحت نشطة للبناء الحيوي لأكتينورودين وأنديسيل بروديوجوسين بواسطة تسريع تنظيم انتساخ *redD* و *actII-orf4*. توحي هذه النتائج بأن الطفرات تؤدي إلى استقرار الوحدة الفرعية بيتا المطابقة (الملتزمة) التي تحاكي شكل رنا بوليميراز المحرض بواسطة الإشارات التي تبدأ الشروع في إنتاج المضاد الحيوي استجابة للمنبهات البيئية (هو وآخرون 2000). (Hu et al., 2000).



الشكل (١١,٩). بيوتانيوليد وفيرجينياميسين S في التنسيق المنظم للبناء الحيوي لفيرجينياميسين.



الشكل (١١,١٠). تخطيط لإدخال الإشارة والشبكات التنظيمية التي تتحكم بإنتاج المضاد الحيوي في التسلسلات. (بالإذن من بب (Bibb, 1996).

## تنظيم عوامل الفوعة والبناء الحيوي للمضاد الحيوي في البكتيريا السالبة-لغرام بواسطة

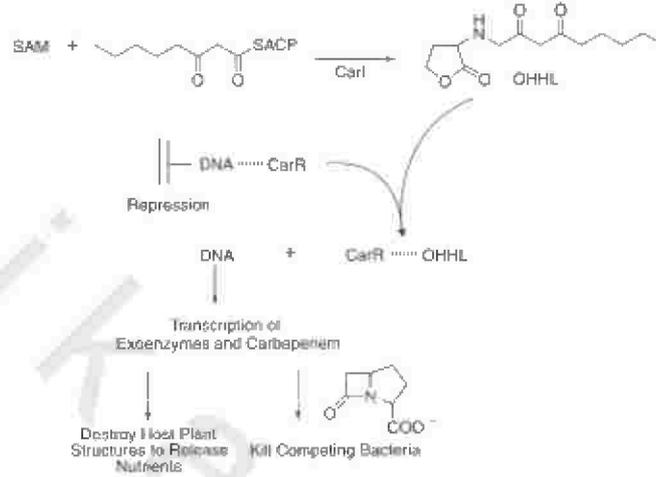
استشعار-نصاب-N-أسيل هوموسيرين لاكتونات (*N-acyl homoserine lactones*)

يمكن الكشف عن المنطق التنظيمي للجينات المماثلة في التحكم بعوامل الفوعة وإنتاج المضاد الحيوي في البكتيريا السالبة-لغرام التي تنتج وتفرز أسيل-HSLs بدلاً من بيوتانولييدات الموجبة-لغرام ككثافة خلية انتشارية معتمدة على استشعار-النصاب و-جزيئات إشارات. ونلاحظ مثالين لاحقاً.

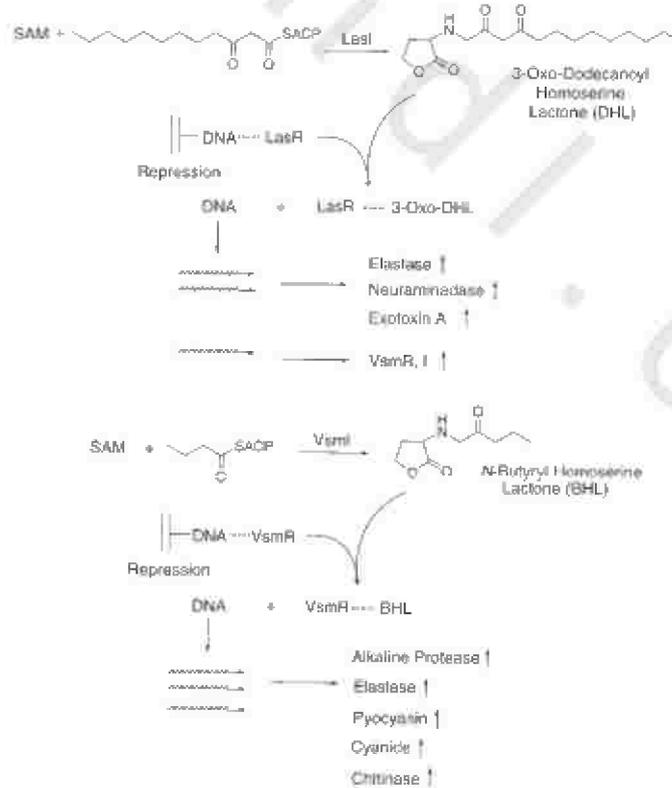
البكتيريا النباتية المسببة للأمراض غالباً ما تفرز إنزيمات (إنزيمات خارجية) (*exoenzymes*) مع القدرة الحادة للماء لتدمر مكونات جدران الخلية النباتية لتطلق الغذاء الذي يمكن بعد ذلك أن يستعمل بواسطة الممرضات. الإروينيا كاروتوفورا (*E.carotovora*) هو أحد هذه الممرضات النباتية (*phytopathogens*) التي تستعمل الكثافة السكانية- المحركة للفيرومون (*pheromone*)/نظم إشارات- النصاب لتنظم سريعاً إنتاج وإفراز الإنزيم الخارجي لتهمضم جدران خلية النبات لتجعل الغذاء متاحاً للبكتيريا المحدودة الموارد (سويفت وآخرون 1996). وهذه الإروينيا تستعمل كذلك نفسها منطق الإشارة لتنظم تنسيقاً جينات للبناء الحيوي للكارباينيم (الشكل ١١.١١). تقتل مضادات البيتالكتام الحيوية البكتيريا المجاورة التي من شأنها التنافس على غذاء الخلية النباتية المنبعث وتعمم البيئة الدقيقة باستثناء إروينيا المنتجة. يظهر الشكل (١١.١١) تخطيط لإنتاج ٣-كيتو-اوكتانويل هوموسيرين لاكتون ((*OHHL*) (*3-keto-octanoyl homoserine lactone*) بواسطة إنزيم *CarI* لإروينيا كاروتوفورا وربطها مع البروتين الكايح الانتساخي *CarR*، مطلقاً معقد *OHHL-Car* من المواضع المحرصة للجينات المستهدفة وإعفاء الكبت الانتساخي. يدمر بناء وإفراز الإنزيم الخارجي تراكيب الخلية النباتية المضيئة، ليطلق الغذاء. وبالتوازي يقتل الكارباينيم (انظر الفصل الثالث عشر لمسار لبناء الحيوي) البكتيريا المنافسة. هناك بعض المنافسات البكتيرية التي تعلمت أن ترد الضربة: تستطيع سلالات العصية الهشة أن تفرز أسيل-*HSL*-لاكتونيز (*acyl-HSL-lctonase*) الذي يحلل مائياً جزيئات الإشارة الخارج الخلوية، تاركاً إروينيا كاروتوفا غير قادرة على صنع المضادات الحيوية (دونج وآخرون 2000).

المثال الثاني هو المقدم بواسطة البكتيريا الممرضة الزائفة الزنجارية وبيولوجية استشعار النصاب لها. وما لا يقل عن اثنين من *HSL*<sub>2</sub> معروفة في هذه الكائنات السالبة - لغرام، *3-oxo-dD-HSL* و *3-keto-dodecanoyl-HSL* و *N-acyl-HSL* حيث السلسلة أقصر ومشعبة، وهي (*BHL*) (*N-butyl-HSL*) (الشكل ١١.١٢) (وينزر وآخرون 2000). ولقد اقترح بأن نظامي نصاب الاستشعار يعمل في تتالي هرمي (سويفت وآخرون 1996) لإنتاج عناصر الفوعة. وكما هو مبين في الشكل (١١.١١)، فإن *3-oxo-Dd-HSL* ينشأ أولاً بفعل سينثاز *LasI* (*LasI synthase*) عند كثافة خلية محددة. وترتبط هذه بالمجذاب عالي مع قاعم *LasI* ويسمح بانتساخ الجينات التي تصنع هذه الإنزيمات مثل إيلاستاز (*elastase*) ونيورامينيداز (*neuraminidase*) وبروتين السم الخارجي *A*. وكذلك يريح قمع انتساخ *vsmR*.

وبروتين VsmI هو أيضاً أسيل-HSL سينثيتاز، وهذه المرة لـ BHL، مستشعر نصاب قصير-السلسلة، الذي يعدُّ ربيطة نوعية لقامع VsmR. المعقد BHL-VsmR يقع دنا بعيداً ويُفعل انتساخ المزيد من إيلاستاز و بروتياز القلوي (alkaline protease)، كيتيناز (chitinase)، بيوسيتين (pyocyanin)، وسيانيد (cyanide).



الشكل (١١،١١). تنظيم الإنزيم الخارجي وإنتاج مضاد كبايبيم الحيوي في إلروبيا كاروتوفا بواسطة أسل هوموسيتين لكتون OHHL.



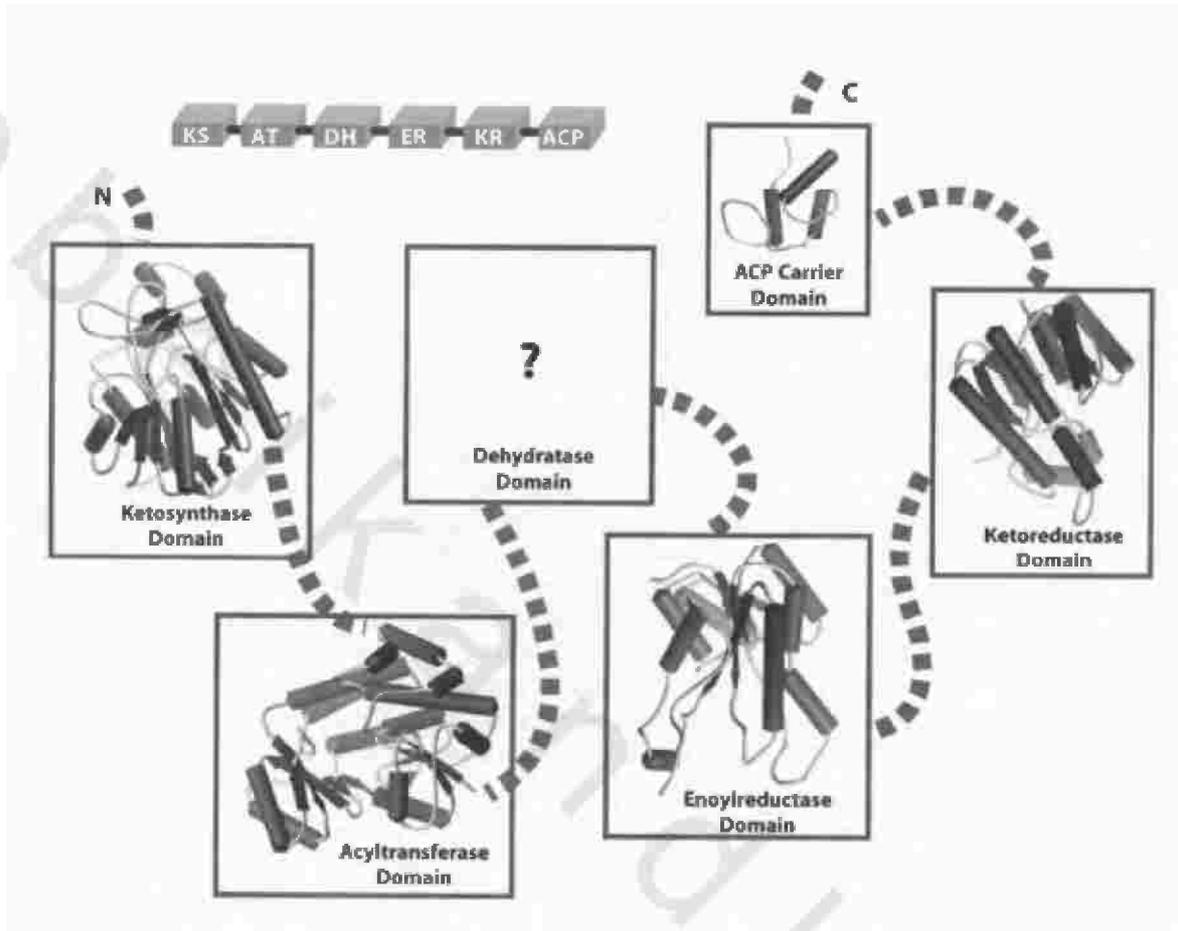
الشكل (١١،١٢). تنالي مزدوج لنصاب الإشارة إن - أسيل هوموسيتين لكتونات في الزائفة الزنجارية.

وجزيء نصاب-الاستشعار الثالث في الزائفة الزنجارية تم وصفه في الآونة الأخيرة ككيان تركيبى متميز، ٢- هيثيل-٣-هيدروكسي-٤- كوينولون (2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone)، الناشئ من أنثرانيليت (anthranilate) و المانح ٣- كيتو-ديكانويل أسيل (3-keto-decanoyl-acyl donor) (كالفي وآخرون 2001, Calfee et al.). وهذا الكوينولون الزائفي هو جزء من استشعار-النصاب الهرمي ويتحكم في البناء الحيوي للعديد من عناصر الفوعة، لذلك منع بنائه الحيوي أو عمله قد يكون خطة مضادة للزائفة.

### الموجز

تعدُّ لآكتونات *N*- أسيل هوموسيسيتين من بكتيريا إروينيا، الزائفة، وغيرها العديد من البكتيريا (تشودير وباسلير 2001, Schaudler and Bassler) و ٢- بيوتاريولاكتونات من المتسلسلات التي ذكرت أعلاه، تُخدم أغراضاً مكافئة، كfermonats ذات - وزن - جزيئي - منخفض لإيصال الإشارات المعتمدة على - كثافة السكان بين البكتيريا من النوع نفسه. وتشارك في نفوذ الغشاء والأعمال مثل تفعيل الربطات لعناصر الانتساخ النوعية، بينما تبنى النوعية (الخصوصية) عند مستوى تميز مستقبل - الربطة. وسوف نلاحظ مجموعة ثالثة من ربطات خارج الخلية، الببتيدات الصغيرة في سلالات المكورة العنقودية الذهبية، في الفصل الخامس عشر التي تجسد منطق مقارن للاتصال من الظروف الخارجية على النمو ودائرة إنتاج المضاد الحيوي في البكتيريا. ونظم الإشارة هذه سبب للتحكم في جميع الأصناف الرئيسة لجينات البناء الحيوي للمضاد الحيوي.





الزخارف التركيبية في الحقول المحفزة والناقلة في خطوط تجميع بوليكتيد سينثياز