

تاژک باکتریایی؛ ساختار، سرهم‌بندی و تولید گشتاور

سعید حسین زاده^۱، مسعود شمس بخش^{۲*}

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد

^۲دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

تاژک باکتریایی یک نانوماشین دوار به قطر ۴۵ نانومتر می‌باشد که در غشاء یاخته‌ای جای گرفته و باکتری از آن برای جابجایی بهره می‌گیرد. اولین ساختار تحرکی که احتمالاً تاژک می‌باشد، طی یک بلیون سال اولیه تکامل پدید آمده و دارای پیچیدگی بسیار بالایی برای سازگاری با محیط می‌باشد. در مقایسه با تاژک موجودات یوکاریوتی که پیشراشه چرخشی دارند، تاژک باکتری‌ها دارای پیشراشه چرخشی است. ساختار تاژک از سه قسمت کلی؛ جسم قاعده‌ای، اتصالگر عمومی (قلاب) و رشته تشکیل شده است. در نتیجه مطالعات گذشته اجزاء سازنده تاژک مشخص شده است و پیکره کلی آن نیز روشن گردیده ولی هنوز تصویر روشنی از مکانیزم تولید گشتاور و چرخش این ساختار در دسترس نیست. سرهم‌بندی ساختار و انتقال اجزاء برون یاخته‌ای، به واسطه دستگاه ترش‌خی ویژه‌ای انجام می‌گیرد که با سیستم ترش‌خی نوع III باکتری‌ها همتایی دارد. توان موتور برای تولید گشتاور چرخشی، از جریان پرفشار یون‌های پرانرژی هیدروژن و سدیم از عرض غشاء داخلی به سمت سیتوسل گرفته می‌شود. در مقاله حاضر تحلیلی بر پیشرفت‌هایی که طی دهه‌های اخیر با استفاده از تکنیک‌های جدید بدست آمده است صورت می‌گیرد.

کلمات کلیدی: نانوماشین، تحرک شناگری، جسم قاعده‌ای، قلاب، رشته، تاژک

مقدمه

می‌تواند داشته باشد متغیر بوده و تحت کنترل عوامل ژنتیکی است، از این رو بسته به گونه باکتری، تعدادشان و موقعیتشان متغیر است. تاژک‌ها در هر دو گروه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت وجود دارند. سرعت باکتری‌ها در شناگری بسیار بالا بوده به طوری که می‌توانند در هر ثانیه ۵-۲۰ برابر طول خود حرکت نمایند که این مقدار از سرعت سریع‌ترین ماهی (*Opuntia tuna*) بیشتر است (۳۴)، از این مقایسه می‌توان به آسانی به توانایی باکتری‌ها در شناگری پی برد. نوع آرایش تاژک و تعداد تاژک اهمیت زیادی داشته ولی غلظت مایع موجود در محیط اطراف باکتری نیز نقش بسزایی دارد (۲۰).

ساختار تاژک

ساختار کلی تاژک را می‌توان به سه قسمت اصلی شامل ساختار جسم قاعده‌ای به عنوان موتور چرخشی و دستگاه صدور پروتئین، یک قلاب انعطاف پذیر و رشته غیرمنعطف تقسیم نمود که در شکل ۱ نمایش داده شد (۶، ۷، ۳۳).

توسعه تحرک یاخته‌ای در دوره‌های اولیه تکامل، اهمیت ویژه‌ای داشته زیرا به کمک آن امکان جلب به شرایط مطلوب و فرار از محیط‌های نامطلوب فراهم می‌شود و یاخته‌ها می‌توانستند با زیستگاه‌شان بهتر سازگار شوند. گمان می‌رود که پدید آمدن اولین ساختار تحرکی که احتمالاً تاژک است، طی یک بلیون سال اولیه تکامل انجام گرفته است (۳۴). تاژک (*Falcellum*) از زبان لاتین گرفته شده است و به معنای شلاق می‌باشد. تاژک برای شناگری باکتری در محیط اطراف ضروری است، مطالعات انجام گرفته با میکروسکوپ الکترونی، مبین این موضوع است که تاژک، ساختاری پروتئینی، مارپیچی و یکپارچه داشته و قطری در حدود ۴۵ نانومتر و طولی در حدود ۱۵ میکرومتر (۱۰-۲۰ برابر طول یاخته) دارد. تعداد تاژکی که یک یاخته باکتریایی

آدرس نویسنده مسئول: تهران-دانشگاه تربیت مدرس-دانشکده کشاورزی-

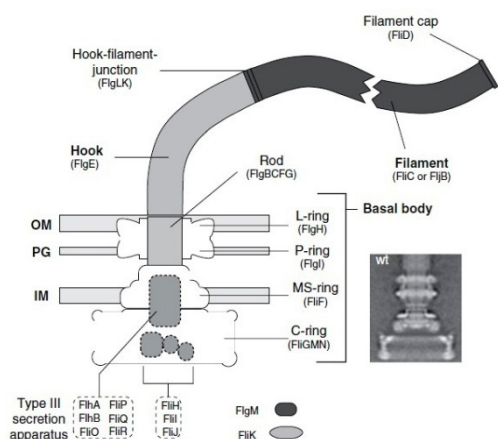
گروه بیماری‌شناسی گیاهی

Email: shamsbakhsh@mail.modares.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۰۳/۰۴

تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۸/۰۳

جسم قاعده ای از چهار قسمت تشکیل یافته است که عبارتند از:



شکل ۱- تصویر شماتیکی تاژک. ساختار تاژک از سه قسمت تشکیل شده است: ۱. جسم قاعده ای شامل دستگاه ترشچی ۲. قلاب منعطف ۳. رشته غیر منعطف (بر گرفته از (Erhardt et al., ۲۰۱۰).

غلاف (Bush): از آنجایی که هیچ یک از حلقه های پایین دست نقش استحکامی نداشته و منحصراً برای تولید گشتاور و صدور پروتئین تمایز یافته اند، از این رو حلقه های واقعی P و L، همانند غلاف هستند که میله را در بر گرفته و آن را در جایگاه خود تثبیت می کنند، که در واقع موجب پایداری رشته و قلاب نیز می شوند. حلقه P در داخل دیواره پپتیدوگلیکان و حلقه L در داخل لایه لیپوپروتئینی باکتری های گرم منفی قرار دارد و به ترتیب از پروتئین های FlgL و FlgH تشکیل یافته اند (۷). قلاب (Hook): قلاب ساختاری لوله ای و خمیده دارد که موتور تاژک را به رشته بلند تاژک متصل می کند. قلاب از حدود ۱۲۰ نسخه پروتئین FlgE ساخته شده است. به چندین دلیل به قلاب، اصطلاح اتصالگر عمومی اطلاق می شود؛ قلاب همانند گاردان خودرو عمل کرده و با اینکه با رشته متحدالمرکز نیست ولی به طور کارآمدی گشتاور را از موتور به رشته منتقل می نماید، قلاب چرخش هماهنگ چندین رشته از یک یاخته واحد با موتورهای متفاوت را امکان پذیر می کند و از سوی دیگر باکتری را قادر می سازد تا در هنگام لزوم بغلتند (۳۲). رشته بسیار غیرمنعطف بوده و امکان پیچش با این زاویه را ندارد، به طوری که در هنگام حرکت مستقیم، تغییر جهت، چرخش و حتی غلتیدن^۴، تکانه وارده تا حدی شدید است که رشته توانایی تحمل آن را ندارد. علاوه بر پروتئین یاد شده،

- 1-Rod Associated Proteins
- 2-Hook Associated Proteins
- 3-Filament Associated Proteins
- 4-Tumbling

موتور دوار (Reversible motor): موتور تاژک از دو قسمت مهم روتور و استاتور تشکیل شده است؛ روتور، شامل حلقه های C، M و S (که گاهی حلقه MS نیز گفته می شود) می باشد، حلقه C از پروتئین های FliN، FliM و FliG_{MC} پروتئین FliG تشکیل شده است. حلقه M از دامنه FliG_N پروتئین FliG و FliF_M پروتئین FliF ساخته شده است و حلقه S از دامنه FliF_S پروتئین FliF تشکیل شده است (۱۶). استاتور از دو پروتئین اصلی MotA و MotB ساخته شده است و بخشی از جسم قاعده ای است که انرژی بیوشیمیایی حاصله از جریان پرفشار یون های هیدروژن و سدیم را به انرژی مکانیکی گشتاور تبدیل می کند (۷، ۱۹). دستگاه صدور پروتئین (se- Protein cretory system): سیستم ترشچی تاژک شباهت بسیار زیادی با سیستم ترشچی نوع ۳ باکتری ها دارد، به طوری که عقیده بر این است این دو سیستم از یک جد مشترک مشتق شده اند (۵) و گاهی آن را سیستم ترشچی نوع ۳ تاژک نیز می گویند (۱۳). عقیده بر این است که دستگاه ترشچی نوع ۳ تاژک در داخل حلقه MS مونتاژ می شود، ساختمان دستگاه ترشچی شامل ۶ پروتئین درون غشایی FliA، FliB، FliO، FliP، FliQ، FliR و ۳ پروتئین سیتوپلاسمی FliH، FliI، FliJ می باشد که برای صدور پروتئین های وابسته به میله (RAP^۱)، وابسته به قلاب (HAP^۲) و وابسته به رشته (FAP^۳) ضروری اند (۲۹، ۲۴، ۲۲). میله (Rod): بر اساس موقعیت قرارگیری، دو میله پایین (prox-imal rod) و میله بالا (distal rod) در ساختار تاژک وجود دارد. میله پایین از پروتئین های FlgB، FlgC، FlgF و FliE و میله بالا از پروتئین FlgG ساخته شده است که در واقع میله در داخل حلقه S، L و P قرار می گیرد و حدود ۳۰۰ آنگستروم طول دارد. میله پایین از بالای سیستم ترشچی و از میان حلقه S آغاز و تا حلقه P ادامه می یابد، میله بالا از ابتدای حلقه P آغاز و از میان حلقه L نیز گذشته و به قلاب وصل می شود (جهت مونتاژ هردوی این میله ها یک کلاهک مشترک به کار گرفته می شود) (۲۵، ۹).

مونتاژ در شکل ۲ آمده است.

مونتاژ حلقه MS و اجزاء غشاء سیستم ترشحی

شروع مونتاژ با اجزای غشائی بوده که از طریق سیستم ترشحی نوع ۲ به غشاء ترشح می‌شوند. مونتاژ اجزای حلقه MS از سایر اجزای تاژک مستقل بوده و این پروتئین خودمونتاژگر است و به کمک دامنه‌های (domain) خود عمل مونتاژ حلقه را انجام می‌دهد. جزئیات دقیق فرآیند مونتاژ مشخص نیست ولی احتمالاً پروتئین‌های حلقه MS و اجزای سیستم ترشحی با هماهنگی یکدیگر ترشح و مونتاژ می‌شوند (۱۵). دو احتمال این فرضیه را تقویت می‌کند؛ اول اینکه پروتئین‌های ترشحی با اجزای حلقه MS، FliF در تعامل اند، که این موضوع در مورد پروتئین FliA به اثبات رسیده است و دوم اینکه اجزای سیستم ترشحی به هنگام ایجاد جهش در اجزای حلقه MS دیگر نمی‌توانند مونتاژ شوند. بنابراین حلقه MS نقش بسیار مهمی در ساختار، مونتاژ و عملکرد تاژک ایفا می‌کند (۱۷). این حلقه اولاً به عنوان صفحه‌ای برای مونتاژ روتورسوئیچ عمل می‌کند، ثانیاً با FliE برهم کنش برقرار نموده و چرخش تاژک را امکان پذیر می‌نماید و ثالثاً به عنوان محفظه‌ای برای اجزای سیستم ترشحی عمل می‌کند (۱۱، ۱۷). شکل گیری پروتئین‌های MotA و MotB با انتشار ساده انجام می‌پذیرد، این پروتئین‌ها در داخل مجموعه استاتور دایمر می‌شوند به طوری که تعداد دایمرهای MotA همیشه دوبرابر دایمر MotB است، دایمر MotB در مرکز قرار گرفته و دایمرهای MotA در حول آن ردیف می‌شوند (۳۸). از سوی دیگر MotB به لایه پپتیدوگلیکان متصل می‌شود و مجموعه را استحکام می‌بخشد (۷، ۱۷).

دو پروتئین دیگر نیز در ساختار قلاب وجود دارند، پروتئین ۱ وابسته به قلاب (HAP1) و پروتئین ۳ وابسته به قلاب (HAP3) نیز در ساختار قلاب دیده می‌شوند (پروتئین ۲ وابسته به قلاب، ساختار کلاهک قلاب را تشکیل می‌دهد) (۱۰). این پروتئین‌ها در انتهای قلاب قرار گرفته و احتمالاً به دلیل تفاوت‌های زیاد ساختاری قلاب و رشته این دو پروتئین به عنوان مبدل‌های حدواسط بین قلاب و رشته قرار می‌گیرند زیرا قلاب یک ساختار بسیار منعطف است حال آنکه رشته بسیار سخت می‌باشد (۱۸). طول قلاب کاملاً کنترل شده بوده و حدود 55 ± 6 نانومتر است (البته مطالعات نشان می‌دهد که در صورت جهش‌زایی در دو پروتئین دخیل در صدور اجزای پروتئینی یعنی FliK و FliH، طول آن ممکن است بلندتر باشد). از لحاظ تقارن ساختار قلاب بسیار مشابه رشته است به طوری که به ازای هر دوپیچ، ۱۱ زیر واحد در کنار هم قرار می‌گیرند ولی ترادف آمینواسیدی زیرواحدهای این دو بسیار متفاوت می‌باشد (۳۱، ۳۲). رشته (Filament): رشته ساختاری شلاق مانند مارپیچی با حدود ۱۵ میکرومتر طول و ۱۵۰-۱۲۰ آنگستروم قطر، وظیفه تحرک باکتری را بر عهده دارد. رشته از نسخه‌های متعدد پروتئین FliC (فلاژلین) ساخته شده است. رشته ساختار لوله‌ای داشته و در هر دو دور، از ۱۱ پروتوفیلament با دو صورت‌بندی^۲ متفاوت راستگرد و چپگرد تشکیل شده است (۳۸). تحرک باکتری غالباً به صورت رانش^۳ و یا غلتش است، به هنگام رانش تاژک پادساعت‌گرد می‌چرخد که در این حالت صورت‌بندی زیرواحدهای رشته چپگرد است ولی به هنگام غلتش به یکباره جهت چرخش موتور تغییر پیدا کرده و به صورت ساعت‌گرد در می‌آید که به دنبال آن صورت‌بندی زیرواحدهای رشته نیز به حالت راستگرد در می‌آیند (۴۰).

پروتئین‌های مهم تشکیل دهنده تاژک

بر حدود ۳۰ نوع هستند که به تعداد مختلف دستگاه تاژک را می‌سازند، فهرستی از این پروتئین‌ها، وظایف و اندازه‌شان در جدول ۱ آمده است.

مونتاژ

مونتاژ تاژک فرآیند بدون وقفه‌ای است و برای سهولت مطالعه آن را به مراحل متعددی تقسیم‌بندی می‌کنند، نمای کلی

T-Hook Associated Protein
2-conformation
3-run

جدول ۱- پروتئین های تشکیل دهنده دستگاه تاژک ^b در سالمونلا و E.coli (برگرفته از (۳، ۱۷))			
نام پروتئین ^a	موقعیت قرار گیری	اندازه مولکولی (کیلودالتون)	وظیفه
FliF	غشای داخلی	۵۵۲	بدنه روتور
FlhA	داخل حلقه MS	۶۹۲	صدور پروتئین
FlhB	داخل حلقه MS	۳۸۲	کنترل طول قلاب
FliO	داخل حلقه MS	۱۲۱	سیستم تیپ ۳ ترشحي تاژک
FliP	داخل حلقه MS	۲۴۵	سیستم تیپ ۳ ترشحي تاژک
FliQ	داخل حلقه MS	۸۹	سیستم تیپ ۳ ترشحي تاژک
FliR	داخل حلقه MS	۲۶۱	سیستم تیپ ۳ ترشحي تاژک
FliI	طرف سیتوپلاسمی غشا	۴۵۷	سیستم تیپ ۳ ترشحي تاژک
FliH	طرف سیتوپلاسمی غشا	۲۳۵	سیستم تیپ ۳ ترشحي تاژک
FliJ	طرف سیتوپلاسمی غشا	۱۴۷	سیستم تیپ ۳ ترشحي تاژک
FliM	طرف سیتوپلاسمی غشا	۳۳۴	روتور/ تغییر جهت چرخش
FliN	طرف سیتوپلاسمی غشا	۱۳۷	روتور/ تغییر جهت چرخش
FliG	طرف سیتوپلاسمی غشا	۳۳۱	روتور/ تغییر جهت چرخش
FlgI	دیواره پپتیدوگلیکان	۳۶۵	بوش
FlgH	غشای خارجی	۲۳۲	بوش
FlgA	حذفصل پری پلاسمی	۲۱۹	مونتاژ حلقه P
FliE	حذفصل پری پلاسمی	۱۰۴	محور محرکه
FlgJ	حذفصل پری پلاسمی	۳۱۳	کلاهک میله
FlgB	دیواره پپتیدوگلیکان	۱۳۸	محور محرکه
FlgC	دیواره پپتیدوگلیکان	۱۳۴	محور محرکه
FlgF	دیواره پپتیدوگلیکان	۲۵۱	محور محرکه
FlgG	بیرون از یاخته	۲۶۰	محور محرکه
FlgE	بیرون از یاخته	۴۰۲	ساختار قلاب
FlgD	بیرون از یاخته	۲۳۱	کلاهک قلاب
FlgK	بیرون از یاخته	۵۴۷	اتصالگر
FlgL	بیرون از یاخته	۳۱۷	اتصالگر
FliC	بیرون از یاخته	۴۹۸	رشته
FliD	بیرون از یاخته	۴۶۸	کلاهک رشته
MotA	غشای درونی/سیتوپلاسم	۲۹۵	موتور/استاتور
MotB	غشای درونی/دیواره پپتیدوگلیکان	۳۰۸	استاتور
a اسامی اصلی ژن و پروتئین های تاژک مربوط به سالمونلا و ا.کلای توسط نام گذاری سال ۱۹۸۸ اصلاح و جایگزین شده است. b اعتقاد بر این است که تمامی این پروتئین ها به طور بهم پیوسته در غشاء و دور منفذ و داخل حلقه MS گرد هم آمده اند.			

مونتاز روتور/سوئیچ

حلقه C و پروتئین FliG از بین پروتئین‌ها غشائی نقش منحصر به فردی دارند و با یکدیگر ساختار روتور/سوئیچ را می‌سازند که بر روی حلقه MS سوار می‌شوند (۸). از آنجایی که اتصال FliG به حلقه MS بسیار محکم است، احتمالاً در ابتدا این پروتئین به حلقه MS متصل می‌شود، و سپس اجزای حلقه C یعنی پروتئین‌های FliM و FliN به دنبال آن مونتاز می‌شوند ولی اینکه به چه شکلی و به چه قسمتی از حلقه FliG متصل می‌شوند هنوز مشخص نیست. در صورتی که اجزای سیستم ترشچی وجود نداشته باشند اجزای حلقه C و FliG می‌توانند در داخل حلقه MS مونتاز شوند ولی این موضوع در مورد یاخته‌های نوع وحشی بعید به نظر می‌رسد (۲). با این وجود، اطلاعات آزمایشگاهی بسیار اندکی در زمینه مونتاز ساختار روتور/سوئیچ وجود دارد ولی به نظر این اجزاء خود مونتازگر هستند. پروتئین‌های FliM، FliN، و FliG با همدیگر مجموعه سوئیچ را می‌سازند. البته در جنس باسیلوس ممکن است پروتئین CheY-فسفاتاز موسوم به FliY، نیز در این مجموعه قرار گیرد (۳۶). این مجموعه سوئیچ برای اعمالی همانند مونتاز تاژک، تولید گشتاور، اتصال به پروتئین CheY-P و تغییر جهت چرخش ضروری است (۱۱، ۱۷).

مونتاز سیستم ترشچی نوع ۳ تاژک

بیشتر اجزای پروتئینی ساختارهای بالادست تاژک به جز اجزای حلقه‌های P و L از طریق سیستم ترشچی نوع ۳ تاژک صادر می‌شوند. پروتئین‌ها از طریق اجزای سیتوپلاسمی این سیستم به قاعده سیستم ترشچی واقع در داخل حلقه MS آورده می‌شوند و پس از باراندازی از طریق اجزای سیتوپلاسمی سیستم ترشچی صادر می‌شوند (۱۷).

مونتاز FliE و میله تاژک

احتمالاً اولین پروتئینی که از مسیر ترشچی نوع ۳ تاژک صادر می‌شود FliE است، FliE یک پروتئین بسیار غیرمعمول است زیرا شباهت زیادی به سایر زیرواحدهای ساختارهای بیرونی (میله، قلاب، و رشته) دارد ولی با این وجود هیچگونه شباهتی

به پروتئین FliF ندارد. پروتئین FliF یکی از اجزای تشکیل دهنده جسم قاعده‌ای و یکی از پروتئین‌های مورد ترشح از طریق سیستم ترشچی نوع ۳ است. این میله ابتدایی متشکله از FliF می‌تواند به عنوان یک مبدل عمل نماید زیرا ساختارهای بالادست آن تقارن مارپیچی دارند حال آنکه اجزای پایین دست تقارن حلقوی دارند. البته با این وجود نیز مقداری ناهماهنگی وجود دارد زیرا حلقه MS از ۲۶ زیرواحد تشکیل شده است در حالی که ساختارهای بالادست (میله انتهایی، قلاب، و رشته) از حدود ۵/۵ واحد به ازای هر دور ساخته شده‌اند (۱۷). در ادامه پروتئین‌های میله انتهایی شامل FlgB، FlgC، FlgF، و FlgG از مسیر ترشچی نوع ۳ تاژک صادر می‌شوند (۱۴). البته پروتئین پنجمی موسوم به FlgJ نیز وجود دارد که در ساختار میله شرکت نمی‌کند ولی در مونتاز آن نقش ویژه‌ای ایفا می‌کند. این پروتئین دو نقش مهم شامل فعالیت مورامیدازی و اتصال به پروتئین‌های میله و چینش آن‌ها را بر عهده دارند. عقیده بر این است که FliJ خود مونتازگر بوده و دامنه ان-ترمینال آن به عنوان کلاهکی برای پروتئین‌های میله عمل نموده و ظاهراً FliE اولین پروتئین از ۵ پروتئین میله است که کلاهک آن را مونتاز می‌کند (۹). در حالت کلی می‌توان عنوان نمود که FliE در ابتدا خود مونتاز می‌شود و سپس پروتئین کلاهک، FlgJ مونتاز می‌گردد که خود مونتاز است، متعاقباً پروتئین‌های FlgB، FlgC، و FlgF به ترتیب صادر و در زیر کلاهک و به کمک کلاهک سرهم بندی می‌شوند و سرانجام پروتئین FlgG نیز صادر و به کمک کلاهک مونتاز می‌شود (۲۱، ۱۷، ۲۵). عقیده بر این است که فعالیت مورامیدازی سی-ترمینال پروتئین FlgJ به طور موضعی دیواره پپتیدوگلیکان را سوراخ نموده و به میله اجازه نفوذ به بیرون از یاخته می‌دهد. این نظریه به وسیله موتانت‌های پروتئینی که ان-ترمینال سالم ولی سی-ترمینال جهش یافته دارند و فاقد قلاب و حلقه L می‌باشند، حمایت می‌شود (۷، ۲۵، ۲۸).

مونتاز حلقه L و P

هردوی اجزای سازنده حلقه‌های P و L که به ترتیب پروتئین‌های FlgI و FlgH می‌باشند، دارای سیگنال پپتید قابل برش می‌باشند که نشان می‌دهد آن‌ها از مسیر سیستم ترشچی نوع ۲ منتقل می‌شوند. از میان اجزای تاژک، زیر واحدهای حلقه L

ژنتیکی درباره تولید گشتاور بدست آمده است. با این حال مدل‌ها متعددی برای تولید گشتاور پیشنهاد شده است ولی هنوز هیچ کدام به قطعیت نرسیده‌اند.

برهم کنش روتور و استاتور

عقیده دانشمندان بر این است که گشتاور مورد نیاز چرخش تاژک از برهم کنش ناحیه حلقه سیتوپلاسمی اجزای متشکله استاتور، MotA و دامنه سی-ترمینال جزء متشکله روتور یعنی FliG تولید می‌شود. برهم کنش روتور-استاتور وابسته به جریان یون‌های هیدروژن و سدیم از داخل استاتور می‌باشد که به سبب شیب الکتروشیمیایی برقرار بین سیتوپلاسم و فضای پری‌پلاسمی صورت می‌گیرد. در موتور *E. coli* این اسیدهای آمینه در پروتئین MotA شامل Arg90، Glu98 هستند و در پروتئین FliG شامل اسیدهای آمینه Arg281، Asp289 و Arg297 می‌باشند. در حالت کلی برهم کنش‌های الکترواستاتیکی بین روتور و استاتور برای تولید گشتاور اهمیت ویژه‌ای دارند (۳۵، ۳۸). تجزیه و تحلیل‌های بیوشیمیایی برهم کنش بین روتور و استاتور هنوز به مرحله‌ای نرسیده است که با تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی قابل مقایسه باشد. تنها مطالعه انجام شده برهم کنش MotA-FliG یا MotA-FliM با استفاده از بررسی‌های کاستن یک به یک اجزاء بررسی شده است. اگرچه ساختار مجموعه استاتور تا کنون معرفی نشده است و از نظر خصوصیات فیزیکی نیز مجموعه استاتور هنوز نامشخص است، ولی مطالعات سیستمیک براساس جهش‌زایی نشان می‌دهد که آسپاراتات ۳۲ پروتئین MotB باکتری *E. coli*، تنها جزئی در بین اجزای سازنده موتور است که می‌تواند پروتون را پذیرفته و مسئول تولید گشتاور باشد، از این رو پیشنهاد شده است که گذر پروتون و تاثیر آن برروی آسپاراتات موجب تغییر صورت‌بندی مجموعه استاتور و موجب گردش موتور می‌شود. جهش در پرولین ۱۷۳ و ۲۲۲ موجب از بین رفتن و یا تاثیر بسیار مخرب، روی حرکت می‌شود. از این رو به نظر می‌رسد این اسیدهای آمینه صورت‌بندی مجموعه MotA/MotB را تنظیم نموده و/یا تغییر صورت‌بندی آن‌ها را کنترل می‌کنند (۳۷، ۱۲، ۳۸).

P و نیز تمامی زیرواحدهایی که برای مونتاژ این اجزاء نیاز است نیز باید از طریق سیستم ترشحی نوع ۲ به پری‌پلاسم منتقل شوند. ولی بقیه اجزاء از طریق خود سیستم ترشحی تاژک منتقل می‌شوند. بعد از ترشح FlgH و FlgI به پری‌پلاسم از طریق مسیر Sec که با برش نشانه پپتیدی همراه است، این اجزاء به دور میله مونتاژ گردیده و ایجاد حلقه‌ها را آغاز می‌کنند (۱۷، ۲۷).

مونتاژ قلاب

پدیده بعدی در مونتاژ جایگزینی کلاهک میله با کلاهک قلاب متشکله از FlgD می‌باشد. قلاب دقیقا تا اندازه ۵۵ نانومتر گسترش می‌یابد. هنگامی که طول قلاب به میزان مشخص و معین رسید کلاهک متلاشی شده و با دو دسته پروتئین جایگزین می‌شوند که پروتئین‌های وابسته به قلاب نامیده می‌شوند. دو پروتئین اتصالگر در همان محل رشد جایگزین می‌شوند ولی پروتئین کلاهک در سطح مونومرهای فلاژلین می‌چرخد و این مونومرها از زیر کلاهک به انتهای رشته اضافه می‌شوند. در هر صورت از این پروتئین‌ها هم انتظار می‌رود که برهم کنش چهارجانبه مشابهی با اجزای مجاور داشته باشند (۱۷، ۲، ۳۰).

نقش کلاهک رشته در مونتاژ

سرانجام برآیند تمام زیر ساخت‌ها پدید می‌آید یعنی مونتاژ رشته آغاز می‌گردد. یک تک رشته می‌تواند از بیش از بیست هزار زیرواحد تشکیل یابد. البته رشته ممکن است در شرایط مختلفی شکسته شود ولی دوباره طول آن ترمیم می‌گردد و فرآیند صدور پروتئین‌های کلاهک و پروتئین‌های تشکیل دهنده رشته یک فرآیند مستمر است و ممکن است کلاهک گذاری دوباره بلافاصله صورت گیرد. بنابراین می‌توان گفت که کلاهک به عنوان یک فیلتر انتخابی عمل می‌کند و می‌تواند برخی از پروتئین‌ها را پس زده و آن‌ها را دوباره به جسم قاعده‌ای برگرداند در حالی که برخی دیگر را مونتاژ نماید (۱۷، ۴۱).

تولید گشتاور

اطلاعات مستند بسیار اندکی از راه مطالعات بیوشیمیایی و

نواحی متصل شونده به یون ها

یک سری نواحی در کانال استاتور وجود دارد که به اعتقاد دانشمندان واحد D32 پروتئین MotB باکتری *E. coli* و واحد D24 پروتئین PomB باکتری *V. alginolyticus* می باشند. یون های هیدروژن و سدیم با اسیدآمینه های با شارژ منفی استاتور ارتباط برقرار می کند. جایگزینی آسپاراتات موقعیت ۳۲ پروتئین MotB با اسیدآمینه های مختلف، نشان می دهد که تمام اسیدآمینه های دیگر به جز گلوتامات در این موقعیت غیرفعال اند (۱). از این رو، در پروتئین MotB واحد D32 به عنوان ناحیه ای است که پروتون بدان متصل می گردد. همین طور در مورد D24 پروتئین PomB نیز به عنوان ناحیه متصل شونده به یون سدیم عمل می کند. اخیرا ثابت شده است که یک زنجیر منفرد در انتقال پروتون نقش نداشته بلکه چندین زنجیره شامل گروه های کربوکسیل بهم پیوسته در تشکیل ناحیه متصل شونده به یون سدیم همکاری می کنند. از این رو در مورد مجموعه PomA/PomB ممکن است اسیدآمینه های دیگری نیز وجود داشته باشد که در تشکیل نواحی متصل شونده به یون سدیم نقش داشته باشند، احتمالا واحد D148 از پروتئین PomA و واحد P16 از پروتئین PomB از این دست اسیدآمینه ها باشند. همچنین ممکن است اسیدآمینه های مدخل کانال و منفذ خروجی کانال و حتی گروه های کربونیل زنجیرهای داخلی کانال نیز در جریان انتخابی یون ها نقش بسیار مهمی ایفا کنند (۴، ۳۸). هنگامی که ۶۰ آمینواسید ان-ترمینال MotB با یک پلی پپتید تراریخته آمیخته می شود، بیش بیانی این پلی پپتید به همراه پروتئین MotA موجب اختلال در رشد یاخته ای می گردد که این اختلال در رشد را به واحد D32 پروتئین MotB نسبت می دهند. بر اساس این نتایج می توان پیشنهاد کرد که بخشی از مجموعه (احتمالا دامنه پری پلاسمی MotB) جریان پروتون را از میان MotB بلوکه کرده و مجموعه را غیرفعال می کند. تجزیه و تحلیل جزئیات این ناحیه مدلی را ارائه می دهد که در آن قطعه موسوم به پلاگ از یک مارپیچ آلفای آمفی پاتیک تشکیل یافته است و به داخل غشای یاخته ای رخنه نموده و سطح پری پلاسمی آن سطح کانال را ایجاد می نماید. برهم کنش مجموعه MotA/MotB با جسم قاعده ای تاژک موجب تحریک

پلاگ شده و کانال پروتونی را باز می کند. از این رو، ممکن است این پلاگ نقش مرکزی در تنظیم باز و بسته نمودن کانال داشته باشد (۴، ۳۸).

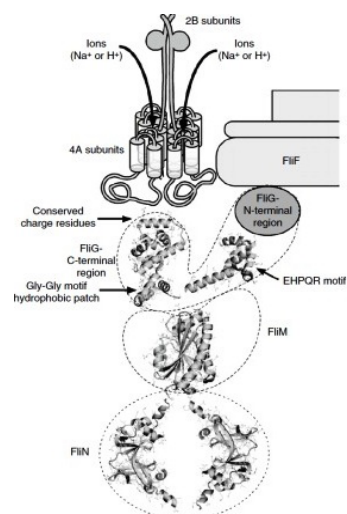
اختصاصیت به یون ها

تاکنون دو نوع موتور براساس نوع یونی (سدیم، هیدروژن) که انتقال می دهند شناسایی شده است. بسیاری از باکتری های متحرک شامل *E. coli*، *S. typhimurium*، *B. subtilis*، *R. sphaeroides* و *Pseudomonas aeruginosa* موتور تاژک وابسته به یون هیدروژن دارند و *V. alginolyticus* و باسیلوس های قلیادوست موتور تاژک وابسته به یون سدیم دارند. ظاهرا *V. alginolyticus* در مکان هایی از دریا زندگی می کند که یون های سدیم فراوان وجود دارند، احتمالا زیستگاه آن ها با سیستم موتور تاژک مرتبط می باشد (۴، ۲۳، ۳۸). کدام قسمت از پروتئین های استاتور مسئول اختصاصیت یونی است؟ استاتور وابسته به یون هیدروژن *Rhodobacter sphearoides* از پروتئین MotA (RsMotA) و MotB (RsMotB) تشکیل یافته است و مشخص شده است که از نظر ساختاری RsMotA شباهت بسیار زیادی به استاتور وابسته به یون سدیم PomA باکتری *V. alginolyticus* دارد. هردوی این پروتئین ها از ۲۵۳ آمینواسید تشکیل یافته اند و حدود ۴۰ درصد از لحاظ ترداف به هم شباهت دارند. ولی منحصرا دامنه تراغشایی RsMotB با ناحیه مشابه از PomB شباهت دارد. هنگامی که RsMo-tA در موتانت های *pomA* باکتری *V. alginolyticus* بیان شود موتور فعالیت خود را هنوز ادامه می دهد و می تواند از منبع یون سدیمی استفاده نماید. از سوی دیگری بیان RsMotB به همراه RsMotA در موتانت های *pomB* باکتری *V. alginolyti-*، *cus*، یاخته غیر متحرک حاصل می کند. از این رو عامل تعیین کننده اختصاصیت یونی لزوما باید روی پروتئین PomB (یا MotB) باشد. یک سری از پروتئین های شیمیر (chimeric)، متشکله از ان-ترمینال RsMotB و سی-ترمینال PomB (موسوم به PomB)، ساخته شده است. برخی از پروتئین ها MomB که دارای قسمت تراغشایی RsMotB را به طور کامل داشتند در مجاورت RsMotA به عنوان استاتور نوع یون سدیم عمل کرده و از یون های سدیم به عنوان منبع انرژی استفاده می کنند.

سیس مشخص شد که پروتئین شیمیر PotB، که از آن-ترمینال تراغشائی PomB و سی-ترمینال پری پلاسمیک MotB باکتری *E. coli* ساخته شده است، در داخل باکتری *E. coli* هنگامی که همراه PomA بیان شود به عنوان استاتور یون سدیم عمل می کند. در این مورد می توان عنوان کرد که منحصرأ پروتئین های PomA و PotB برای استفاده از یون های سدیم به عنوان منبع انرژی لازم است. این مطالب گواه این موضوع هستند که دامنه سیتوپلاسمی و تراغشائی مجموعه PomA/PomB برای استفاده از یون سدیم کافی هستند و قسمت پری پلاسمی زیر واحد B (MotB و PomB) لزوم وجود MotX و MotY را برای عملکرد استاتور ثابت می کند. احتمالاً متغیر بودن اندازه کانال در استاتورهای شیمیر روی اختصاصیت یونی نیز تاثیر بگذارد (۲۶، ۳۸).

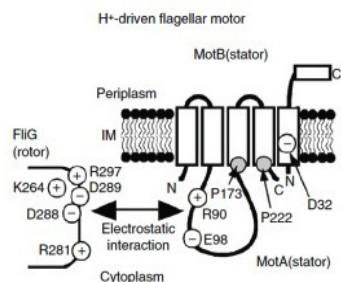
انتقال گشتاور از موتور به روتور

پروتئین های FliM، FliN و FliG ساختار سوئیچ را می سازند که در تولید چرخش، مونتاژ و تغییر جهت چرخش اهمیت دارد و در صورت جهش در این ساختارها و یا هرگونه اختلال در آن ها موجب ایجاد فنوتیپ های فاقد تاژک، فاقد تحرک و فاقد کموتاکسی می شود. بررسی ها نشان داده است که اسیدآمینه شماره ۴۶ ناحیه آن-ترمینال پروتئین FliG برای برهم کنش با پروتئین FliF و انتقال گشتاور ضروری است، به طوری که این دو پروتئین با نظم یک به یک به هم متصل شده اند (شکل ۳).



شکل ۳- ساختار انتقالگر انرژی مکانیکی از استاتور به روتور نشان داده شده است (۳۸).

پروتئین FliG یک دامنه میانی موسوم به FliG_M دارد که در بین اسیدآمینه های ۱۱۵ تا ۱۹۰ واقع شده است و زیرواحدهای حفاظت شده EHPQ (۱۲۵-۱۲۸) و R₁₆₀ (ماتیف EHPQR) در این قسمت واقع شده است که برای اتصال به پروتئین FliM ضروری می باشد. دامنه سی-ترمینال (۱۹۸-۳۳۵) یک سطح حفاظت شده آگریز ایجاد می کند که برای برهم کنش الکترواستاتیکی با پروتئین موتور MotA ضروری است، به طوری که برهم کنش ۵ اسید آمینه شارژ شده از این منطقه با پروتئین موتور مذکور برای تولید گشتاور اهمیت ویژه ای دارد (۴۲). این اسیدآمینه ها در مناطق بیرونی پروتئین در دامنه سی-ترمینال می باشند به طوری که این پنج اسیدآمینه در دودسته، یک ساختار V شکل ایجاد می کنند. دامنه میانی از طریق یک ماریچج آلفا و یک اتصالگر کوتاه به دامنه سی-ترمینال متصل می گردد، به طوری که این رابطه دارای تکرارهای حفاظت شده گلیسین پشت سرهم می باشند. ظاهراً این دامنه ها در تحرک و انعطاف پذیری هردو دامنه تاثیر دارند. از این رو احتمال دارد که نحوه ارتباط این دو دامنه در جهت چرخش روتور اهمیت زیادی داشته باشد. ساختار V شکل سی-ترمینال پروتئین FliG با دو اسیدآمینه شارژ شده در لوپ سیتوپلاسمی پروتئین MotA برهم کنش الکترواستاتیکی برقرار می کند (شکل ۴). بررسی ها نشان می دهد که طی حالت اولیه شارژهای غیر هم نام از پروتئین FliG و MotA روبروی یکدیگر قرار می گیرند و باعث می شود تا پروتئین FliG در این راستا حرکت کند سپس با اتصال یون های پرانرژی به آسپاراتات شماره ۳۲ MotB، این پروتئین تغییر صورتبندی می دهد و موجب تغییر صورتبندی MotA می شود به طوری که اسیدآمینه های با شارژ هم نام روبروی یکدیگر قرار می گیرند و باعث دفع همدیگر می شوند. این چرخه ادامه می یابد تا روتور به طور مداوم بچرخد (۳۸، ۴۰).



شکل ۴- برهم کنش الکترواستاتیکی لوپ سیتوپلاسمی پروتئین MotA و سی-ترمینال FliG (۳۸)

منابع

- (1) Asai Y, Yakushi T, Kawagishi I, Homma M. Ion-coupling determinants of Na⁺-driven and H⁺-driven flagellar motors. *J Mol Biol*, 2003; 327 (2): 453-463.
- (2) Bardy SL, Ng SYM, Jarrell KF. Prokaryotic motility structures. *Microbiology*, 2003; 149 (2): 295-304.
- (3) Berg HC. The rotary motor of bacterial flagella. *Biochemistry*, 2003; 72 (1): 19.
- (4) Berry RM, Armitage JP. The bacterial flagella motor. *Adv Microb Physiol*, 1999; 4: 291-337.
- (5) Blocker A, Komoriya K, Aizawa SI. Type III secretion systems and bacterial flagella: insights into their function from structural similarities. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003; 100 (6): 3027.
- (6) Derosier D. Bacterial Flagellum: Visualizing the Complete Machine In Situ. *Curr Biol*, 2006; 16 (21): R928-R930.
- (7) Erhardt M, Namba K, Hughes KT. Bacterial nanomachines: the flagellum and type III injectisome. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010; 2 (11).
- (8) Francis NR, Sosinsky GE, Thomas D, Derosier DJ. Isolation, characterization and structure of bacterial flagellar motors containing the switch complex. *J Mol Biol*, 1994; 235 (4): 1261.
- (9) Hirano T, Minamino T, Macnab RM. The role in flagellar rod assembly of the N-terminal domain of Salmonella FlgJ, a flagellum-specific muramidase. *J Mol Biol*, 2001; 312 (2): 359-369.
- (10) Homma M, Derosier DJ, Macnab RM. Flagellar hook and hook-associated proteins of Salmonella typhimurium and their relationship to other axial components of the flagellum. *J Mol Biol*, 1990; 213 (4): 819-832.
- (11) Jones CJ, Macnab RM. Flagellar assembly in Salmonella typhimurium: analysis with temperature-sensitive mutants. *J Bacteriol*, 1990; 172 (3): 1327-1339.
- (12) Kojima S, Blair DF. Conformational change in the stator of the bacterial flagellar motor. *Biochemistry*, 2001; 40 (43): 13041-13050.
- (13) Kubori T, Matsushima Y, Nakamura D, Uralil J, Lara-Tejero M, Sukhan A, Aizawa SI. Supramolecular structure of the Salmonella typhimurium type III protein secretion system. *Science*, 1998; 280 (5363): 602-605.
- (14) Kubori T, Shimamoto N, Yamaguchi S, Namba K, Aizawa SI. Morphological pathway of flagellar assembly in Salmonella typhimurium. *J Mol Biol*, 1992; 226 (2): 433-446.
- (15) Kubori T, Sukhan A, Aizawa SI, Galán JE. Molecular characterization and assembly of the needle complex of the Salmonella typhimurium type III protein secretion system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; 97 (18): 10225.
- (16) Lowder BJ, Duyvesteyn MD, Blair DF. FliG subunit arrangement in the flagellar rotor probed by targeted cross-linking. *J Bacteriol*, 2005; 187 (16): 5640-5647.
- (17) Macnab RM. How bacteria assemble flagella. *Annu Rev Microbiol*, 2003; 57 (1): 77-100.
- (18) Maki-Yonekura S, Yonekura K, Namba K. Domain movements of HAP2 in the cap-filament complex formation and growth process of the bacterial flagellum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003; 100 (26): 15528.
- (19) Manson MD. Dynamic motors for bacterial flagella. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010; 107 (25): 1115.
- (20) Mccall D, Stock D, Achey P. Introduction to Microbiology: 11th hour. Blackwell Science Inc, 2001, 289 pp.
- (21) Minamino T, Chu R, Yamaguchi S, Macnab RM. Role of FliJ in flagellar protein export in Salmonella. *J Bacteriol*, 2000a; 182 (15): 4207.
- (22) Minamino T, Chu R, Yamaguchi S, Macnab RM. Role of FliJ in Flagellar Protein Export in Salmonella. *J Bacteriol*, 2000b; 182 (15): 4207-4215.
- (23) Minamino T, Imada K, Namba K. Molecular motors of the bacterial flagella. *Curr Opin Struc Biol*, 2008; 18 (6): 693-701.
- (24) Minamino T, Macnab RM. Components of the Salmonella flagellar export apparatus and classification of export substrates. *J Bacteriol*, 1999; 181 (5): 1388-1394.
- (25) Minamino T, Yamaguchi S, Macnab RM. Interaction between FliE and FlgB, a proximal rod component of the flagellar basal body of Salmonella. *J Bacteriol*, 2000; 182 (11): 3029.
- (26) Mitsui T, Ohshima H. Proposed model for the flagellar rotary motor. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2005; 46 (1): 32-44.
- (27) Nambu T, Kutsukake K. The Salmonella FlgA protein, a putative periplasmic chaperone essential for flagellar P ring formation. *Microbiology*, 2000; 146 (5): 1171.
- (28) Nambu T, Minamino T, Macnab RM, Kutsukake K. Peptidoglycan-Hydrolyzing Activity of the FlgJ Protein, Essential for Flagellar Rod Formation in Salmonella typhimurium. *J Bacteriol*, 1999; 181 (5): 1555-1561.
- (29) Ohnishi K, Fan F, Schoenhals GJ, Kihara M, Macnab RM. The FliO, FliP, FliQ, and FliR proteins of Salmonella typhimurium: putative components for flagellar assembly. *J Bacteriol*, 1997; 179 (19): 6092-6099.
- (30) Ohnishi K, Ohto Y, Aizawa S, Macnab RM, Iino T. FlgD is a scaffolding protein needed for flagellar hook assembly in Salmonella typhimurium. *J Bacteriol*, 1994; 176 (8): 2272-2281.
- (31) Samatey FA, Imada K, Nagashima S, Vonderviszt F, Kumasaka T, Yamamoto M, Namba K. Structure of the bacterial flagellar protofilament and implications for a switch for supercoiling. *Nature*, 2001; 410 (6826): 331-337.
- (32) Samatey FA, Matsunami H, Imada K, Nagashima S, Shaikh TR, Thomas DR, Namba K. Structure of the bacterial

- flagellar hook and implication for the molecular universal joint mechanism. *Nature*, 2004; 431 (7012): 1062-1068.
- (33) Schoenhals GJ, Macnab RM. FliL is a membrane-associated component of the flagellar basal body of *Salmonella*. *Microbiology*, 1999; 145 (7): 1769-1775.
- (34) Shi W, Lux R. Focal adhesion: getting a grasp on myxobacterial gliding. *Nat Chem Biol*, 2007; 3 (4): 205-206.
- (35) Suzuki H, Yonekura K, Namba K. Structure of the rotor of the bacterial flagellar motor revealed by electron cryomicroscopy and single-particle image analysis. *J Mol Biol*, 2004; 337 (1): 105-113.
- (36) Szurmant H, Muff TJ, Ordal GW. *Bacillus subtilis* CheC and FliY are members of a novel class of CheY-P-hydrolyzing proteins in the chemotactic signal transduction cascade. *Nat Chem Biol*, 2004; 279 (21): 21787-21792.
- (37) Tang H, Blair DF. Regulated underexpression of the FliM protein of *Escherichia coli* and evidence for a location in the flagellar motor distinct from the MotA/MotB torque generators. *J Bacteriol*, 1995; 177 (12): 3485-3495.
- (38) Terashima H, Kojima S, Homma M. Flagellar Motility in Bacteria: Structure and Function of Flagellar Motor. *Int Rev Cell Mol*, 2008; 270: 39-85.
- (39) Van Way, SM, Hosking ER, Braun TF, Manson MD. Mot protein assembly into the bacterial flagellum: a model based on mutational analysis of the motB gene1. *J Mol Biol*, 2000; 297 (1): 7-24.
- (40) Yonekura K, Maki-Yonekura S, Namba K. Complete atomic model of the bacterial flagellar filament by electron cryomicroscopy. *Nature*, 2003; 424 (6949): 643-650.
- (41) Yonekura K, Maki S, Morgan DG, Derosier DJ, Vonderviszt F, Imada K, Namba K. The bacterial flagellar cap as the rotary promoter of flagellin self-assembly. *Science*, 2000; 290 (5499): 2148-2152.
- (42) Zhou J, Lloyd SA, Blair DF. Electrostatic interactions between rotor and stator in the bacterial flagellar motor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; 95 (11): 6436.