مجله ایمنی زیستی
دوره ۷، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۳

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی ژن‌های pcbAB, pcbC و penDE در سنتز پنی سیلین در قارچ‌ها

سیده فاطمه میری[1*]، محمد علی تاجیک قنبری[2]، حشمت اله رحیمیان[3] و قربانعلی نعمت زاده[3]
۱-کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- استادیار گروه گیاهپزشکی ساری، ساری، ایران
۳- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

sf_miri@yahoo.com

چکیده

آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله محصولات با ارزشی هستند که در دنیا در جهت سلامت انسان‌ها مصرف می‌شوند. منبع مولد آنتی‌بیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌هایی از جمله قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌باشند. در مطالعه حاضر، توالی‌های DNA مربوط به ژن‌های دخیل در سنتز آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (pcbAB، pcbC، penDE)، در چند جنس از قارچ‌ها، از بانک‌های اطلاعاتی استخراج و توسط نرم‌افزار MEGA5 خوشه‌بندی شدند. مقایسه توالی‌ها در سطوح مختلف، شباهت‌ها و تفاوت‌های قابل‌توجهی نشان دادند که از آن جمله می‌توان به قرارگرفتن هر کدام از ژن‌ها در کلادهای متفاوت و تشابه توالی در جنس‌های *Penicillium* و *Aspergilus*، شباهت توالی بین گونه‌های *A. flavus* و *A. oryzae* و همچنین گونه‌های *P. chrysogenum* و *P. nalgiovense* اشاره نمود. به نظر می‌رسد با توجه به اهمیت آنتی‌بیوتیک‌ها، خصوصا آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین، این تفاوت‌ها و شباهت‌ها می‌تواند کاندیدی برای مطالعات بیوانفورماتیکی بعدی باشد.

کلمات کلیدی: آنتی‌بیوتیک، آنالیز فیلوژنتیکی، MEGA5، *Penicillium*، *Aspergilus*

مقدمه

پنی‌سیلین اولین بار توسط فلمینگ در سال ۱۹۲۸ کشف شد. تولید صنعتی پنی‌سیلین بعد از جنگ جهانی دوم توسعه یافته و تا به امروز از مهمترین آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام شمرده می‌شود (۱). از این آنتی‌بیوتیک‌ها برای مبارزه با بیماری‌های انسانی و حیوانی استفاده میشود و تا به امروز از پراهمیت‌ترین شرایط درمانی، استفاده و تولید این آنتی‌بیوتیک بوده است. هر روزه مقاوم شدن نژادهای جدید، نیاز کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید را ایجاب می‌کند. بیوسنتز آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین، یک مدل بسیار خوب به‌منظور مطالعه تولید متابولیت‌های ثانویه در قارچ‌های رشته‌ای محسوب می‌شود. تولید آنتی‌بیوتیک‌های گروه β-lactam توسط میکروارگانیسم‌ها، نقش مناسبی در زمینه مطالعات ژنتیک مولکولی و بیوشیمیایی دارد. یکی از جنبه‌های عالی در قارچ‌های رشته‌ای، تولید

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.4.4]

متابولیت‌های ثانویه از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات ضد ویروئیدی و ضد تومور آلکالوئیدها و غیره، می‌باشد. توالی‌یابی ژنوم قارچ‌ها نشان داده است که ژن‌های زیادی در سنتز پلی‌کتیدها (Polyketide)، پپتیدهای غیرریبوزومی، و آنزیم‌های مختلف دخیل در تولید متابولیت‌های ثانویه نقش دارند. *Penicillium chrysogenum* از گروه قارچ‌های رشته‌ای می‌باشد که در مطالعات داروسازی در رابطه با قابلیت تولید آنتی‌بیوتیک‌های β-lactam از جمله benzylpenicillin یا phenoxymethylpenicillin کاربرد دارد (۲). ژن بیوسنتز کننده‌ی متابولیت‌های ثانویه، معمولا به‌طور مجموع، با ژن‌های تولید کننده‌ی آنتی‌بیوتیک، نظم‌دهی شده‌اند. ژن بیوسنتز کننده پنی‌سیلین شامل سه ژن pcbAB، pcbC و penDE است (۵) که در *Aspergillus nidulans*،*Penicillium chrysogenum*، *Penicillium nalgiovense* یکسان می‌باشند. این ژن‌ها به‌ترتیب کدکننده‌ی ACV synthetase، isopenicillin N synthase (cyclase) و IPN acyltransferase می‌باشند (٤). این ژن‌ها با سایر ORFs شکل گرفته در DNA می‌پیوندند. این ژن‌ها در قطعه ژنومی ۱۷kb DNA قرار دارند. ژن pcbAB (۱۱,۲kb) در جهت مثبت دو ژن pcbC و penDE واقع شده است. در ایزوله‌هایی که مقدار زیادی پنی‌سیلین تولید می‌کنند، چندین کپی از آن‌ها وجود دارد. دو ژن بیوسنتز کننده پنی‌سیلین، pcbAB و pcbC از نواحی پروموتور واگرا (دوطرفه) رونویسی می‌شوند. بیان ژن از نواحی دارای پروموتورهای واگرا (دو سویه) با تشکیل مجدد ساختارهای کروماتین همراه است، که باعث آسان شدن جابجایی نواحی پروموتور، توسط RNA پلیمراز و فاکتورهای ترجمه می‌شود (۳).

مواد و روش‌ها

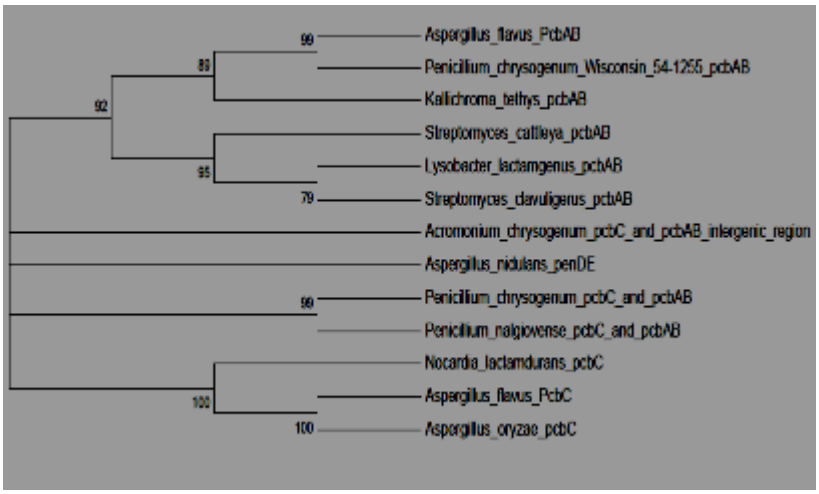
برای بررسی روابط تکاملی بین اعضای خانواده ژن‌های تولید کننده پنی‌سیلین در قارچ‌ها، از بانک اطلاعاتی NCBI، توالی‌های DNA ژن‌های دخیل در تولید پنی‌سیلین شناسایی و استخراج و پس از خوشه‌بندی توالی‌ها توسط نرم‌افزار MEGA5، مورد آنالیز و مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

در این بررسی توالی‌های DNA ژن‌های دخیل در تولید پنی‌سیلین در جنس‌های *Penicillium*، *Aspergilus*، *kallichroma*، *Lysobacter*، *Streptomyces*، *Acremonium* و *Nocardia* مورد بررسی قرار گرفتند و پس از استخراج توالی‌ها به روش consensus bpptstrap neighbor_joining (با بوت‌استرپ ۱۰۰۰) که در شکل (۱) نشان داده شده است، خوشه‌بندی شدند. با مشاهده این شکل می‌توان مقایسه‌هایی انجام داد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، شاخه اصلی به ۲ گونه و ۳ کلاد تقسیم شده است. ژن pcbAB در *A. flavus* و *P. chrysogenum* با ۹۰ درصد بوت‌استرپ شباهت دارند و این گروه با گونه *Kallichroma cattlya*، ۸۹ درصد نزدیکی توالی را نشان دادند. شباهت ژن pcbC در ۲ گونه *A. flavus* و *A. oryzae* دیده می‌شود و با *Nocardia lactamdurans*، شباهت توالی ۱۰۰ درصد را نشان دادند. دو گونه *P. chrysogenum* و *P. nalgiovense* در این ژن‌ها نزدیکی توالی ۹۹ درصد دارند. نکته قابل توجه این‌که ژن penDE در *A. nidulans* در شاخه جداگانه قرار گرفته است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.4.4]



شکل۱- نمایش گروه‌بندی خوشه‌ای توالی‌های DNA ژن‌های دخیل در سنتز پنی‌سیلین مربوط به گونه‌های مختلف به روش consensus) (bootstrap Neighbor-Joining tree با بوت‌استرپ ۱۰۰۰

فرآیند ژنتیکی تولید پنی‌سیلین در قارچ‌های رشته‌ای (*Penicillium notatum* ،*P. chrysogenum* و *Aspergillus nidulans*)، به کندی صورت می‌گیرد. این فرآیند طی یک‌سری واکنش‌های آنزیمی صورت می‌گیرد. دو ژن کد کننده آنزیم‌های دخیل در تولید پنی‌سیلین، acyl-CoA:6-amino penicillanic acid (6- acyltransferase (APA و isopenicillin N synthase در قطعه ژنومی ۵،۱kb *SalI* DNA باهم می‌پیوندند (۲).

مسیر بیوسنتز پنی‌سیلین، با تشکیل آنزیم سنتتاز تری پپتیدی (Tripeptide) غیرریبوزومی d(L-a-aminoadipyl)-L-cysteinyl-D-valine (ACV) از L-aaminoadipic acid, L-cysteine و L-valine در سیتوزول آغاز می‌شود. این مرحله، توسط ژن pcbAB کد می‌شود. درمرحله بعدی، تری‌ترین ACV به آنزیم سنتتاز Isopenicillin N تبدیل می‌شود. این مرحله توسط ژن pcbC کد می‌شود. ترکیب تولید شده اولین ترکیب بیواکتیو تولید شده در این مسیر می‌باشد. سپس Isopenicillin N وارد پراکسی‌زوم شده و بخش L-a-aminoadipyl با بخشی از زنجیره هیدروفوبیک جایگزین می‌شود. در طی این واکنش IPN (acyltransferase IAT) با استفاده از ژن penDE کد می‌شود که در داخل ماتریکس پراکسی‌زوم قرار می‌گیرد.

به‌طور کلی به علت اهمیت فراوان ژن‌های تولید کننده پنی‌سیلین و اطلاعات کم در رابطه با آنالیزهای بیوانفورماتیکی، مقایسه توالی‌های DNA شیوه جدیدی برای بررسی روابط تکاملی است و با بررسی‌های بیشتر در این زمینه می‌توان مقایساتی را در سطوح مختلف انجام داد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.4.4]

References **فهرست منابع**

1- Burns, M., van Dijck PWM., (2002). The development of the penicillin production process in Delft, The Netherlands, during World War II under Nazi occupation. Advances in Applied Microbiology. *Vol 51* 51185-200.

2- Diez, B., Barredo, J., Alvarez, E., Cantrol, J., Solingen, P., Groenen, M., Veenstra, A., (1989). Two genes involved in penicillin biosynthesis are linked in a 5.1 kb salt fragment in the genome of *penicillium chrysogenum*. Molecular and General Genetics MGG. 218: 572-576

3- Kosalkova, K., Garcia-Estrada, C., Ullan, R.V., Godio, R.P., Feltrer, R., Teijeira, F., Mauriz, E., Martin, J.F., (2009). The global regulator LaeA controls penicillin biosynthesis, pigmentation and sporulation, but not roquefortine C synthesis in *Penicillium chrysogenum*. Biochimie. 91: 214-225

4- Martin, J.F., (2000). Molecular control of expression of penicillin biosynyhesis genes in fungi: regulatory proteins intract with a bidirectional promoter region. Jornal of bactriology. 182: 2355-2362

5- Stephen, W. Queener., (1990). molecular biology of penicillin and cephalosporin biosynthesis. Antimicrobial agents and chemotherapy

Bioinformatics analysis of pcbAB, pcbC and penDE genes in penicillin synthesis at fungi

Fatemeh Miri[1*], Mohammad Ali Tajik Ghanbari[2], Heshmatollah Rahimian[3], Ghorbanali Nematzadeh[3]

1-M.S.c of Plant Pathology, Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Sari, Sari, Iran

2- Assistant Professor of Plant Protection, Sari, Iran

3- Professor of Agricultural Sciences and Natural Resources University of Sari, Sari, Iran

sf_miri@yahoo.com

Abstract

Antibiotics are valuable components that are being used for human health globally. Fungi, bacteria are such important antibiotic producers. At the recent survey we have collected the DNA sequences of several fungal genera, penicillin antibiotic related genes (penDE, pcbC, pcbAB) from databanks and clustered by MEGA5 software. A sequence comparison represents considerable similarities and differences at several levels, it could be considered as placement of each gene at different clade, sequence similaritiesbetween *Penicillium* and *Aspergillus* genera andbetween *A. flavus* and *A. oryzae* and also *P. chrysogenum* and *P. nalgiovence*. According to the importance of the antibiotics specially penicillin, it seems these similarities and differences could be a best candidate for the subsequent bioinformatics researches.

Keywords: Antibiotic, Phylogenetic analysis, MEGA5, *Penicillium*, *Aspergillus*

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.2.4.4]