

اصول چهار گانه کنخ :

- ۱- عامل ایجاد بیماری (میکروارگانیسم) باید از ترشحات بیمار جدا شود .
- ۲- عامل ایجاد بیماری را باید بتوان در کشت خالص در محیط invitro کشت داد .
- ۳- عامل ایجاد بیماری در حیوان حساس آزمایشگاهی باید بتواند همان بیماری را ایجاد کند .
- ۴- عامل ایجاد بیماری را باید بتوان از حیوان حساس جدا کرد و دوباره در کشت خالص کشت داد .

۱-۲ طبقه بندی باکتری ها :

تاگزونومی شامل : ۱- رده بندی ۲- نام گذاری ۳- شناسایی

تاگزون : قرار دادن ارگانیسم های مشابه درون گروه های تاگزونومیک که هر گروه را تاگزون می نامند .
گونه (species) : تاگزون اولیه یا پایه است که مجموعه ای از سویه ها با اختصاصات مشابه به ویژه مشابهت در ماده ژنتیکی است.

جنس (Genus) : گونه های وابسته به هم

خانواده (family) : جنس های مشابه

راسته (order) : مجموعه خانواده ها

رده (class) : مجموعه راسته ها در درون رده قرار می گیرند .

شاخه (phylum Division) : رده ها در درون شاخه جای می گیرند .

سلسله (kingdom) : تمام شاخه ها درون سلسله جای می یگرند .

Domain → kingdom → phylum → class → order → family → Genus → species → strain

نام گذاری ۲ اسمی ارگانیسم ها متشکل از ۲ کلمه لاتین است که کلمه اول بیانگر جنس و کلمه دوم اشاره به گونه دارد .

زیر گونه (Subspecies) : یک گونه بر اساس گوناگونی در بعضی از صفات فنوتیپی کم اما پایدار به زیر گونه که پایین ترین دسته تاگزونومی رسمی در علم طبقه بندی است تقسیم می شود .

بیووار (Biovar) : گروهی از سویه ها که بر اساس صفت های ویژه مثلا بیو شیمیایی از همدیگر جدا می شوند .

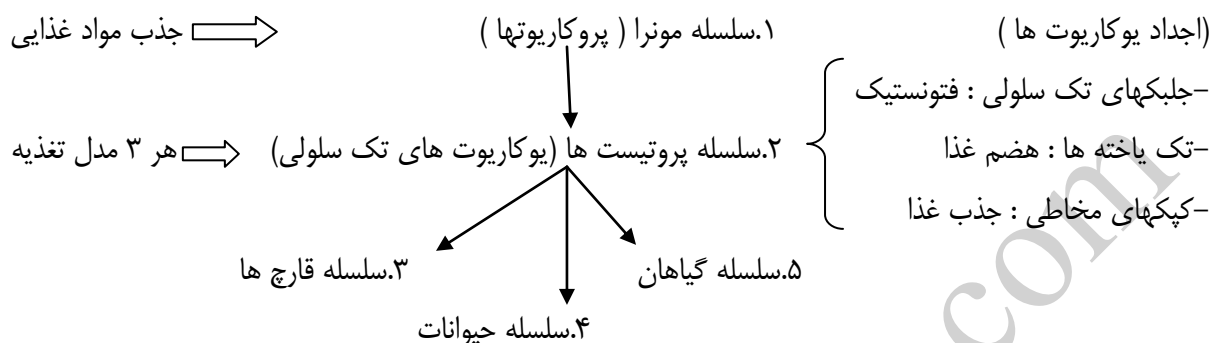
سرو وار (serovar) : گروهی از سویه ها که بر اساس صفت های ویژه مثلا ساختار آنتی ژنی از همدیگر جدا می شوند .

فاگو وار (phagovar) : گروهی از سویه ها که بر اساس صفت های ویژه مثلا واکنش به باکتروفاژ از همدیگر جدا می شوند .

اولین تقسیم بندی ارگانیسم های زنده توسط لینه انجام شد .
۱- سلسله گیاهان + سایر میکرو ارگانیسم ها
۲- سلسله جانوران

هکل سلسله سوم پروتیسست ها یا آغازیان را در سال ۱۸۶۶ پیشنهاد کرده که پروتیسست ها شامل باکتری ها ، جلبکها ، مخمرها و تک یاخته ها بود.

وتیکار در سال ۱۹۶۹ طبقه بندی ۵ سلسله ای را برای موجودات زنده ارائه داد ؛ که بر اساس سازگاری با ۳ مدل تغذیه ای فتوسنتز ، جذب و هضم نشان داده شده است.



بر اساس طرح وتیکار میکرو ارگانیسم ها در ۳ سلسله از ۵ سلسله که شامل مونرا ، پروتیسست ها و سلسله قارچها قرار می گیرند.

ویژگی طرح وتیکار : تکامل زمانی در پیدایش موجودات زنده

بر اساس طرح ۵ سلسله ای وتیکار سلسله پروکاریوتها شامل ۴ شاخه است :

- ۱-گراسیلی کوت ها
- ۲-فیرمی کوت ها
- ۳-تنری کوت ها
- ۴-مندوزی کوت ها
- ۱-گراسیلی کوت ها :

پروکاریوتهای دارای دیواره سلولی کمپلکس ، غشاء خارجی و پپتیدو گلیکان به استثناء کلامید یا که در این شاخه قرار دارد و فاقد پپتیدوگلیکان است باکتریهای شاخه ، گرم منفی رنگ می گیرند . فاقد اندوسپور بوده و تولید مثل از طریق تقسیم دوتایی و در بعضی گروه ها جوانه زدن می باشد . یک گروه نادر به نام پلئوروکپسال تقسیم چند گانه دارد .

- ۱- اسکوئو باکترها
 - ۲- آنوکسی فوتوباکتری ها
 - ۳- اکی فوتو باکتری ها
- شاخه گراسیلی کوت ها شامل ۳ رده است

۲-فیرمی کوت ها :

پروکاریوت های گرم مثبت با دیواره ضخیم هستند . تقسیم سلولی از طریق ۲ تایی است . بعضی از باکتریهای این شاخه اندوسپور تولید می کنند . معمولا غیر فتوسنتتیک اند و هوازی یا بی هوازی هستند .

- ۱-فیرمی باکتری ها
 - ۲-تالوباکتری ها
 - ۳-تنری کوت ها :
- شاخه فیرمی کوت ها شامل ۲ رده اند :

پروکاریوت های فاقد دیواره سلولی که از طریق جوانه زدن ، قطعه قطعه شدن و تقسیم دو تایی ، تولید مثل می کنند . ارگانسیم های این شاخه مشابه L فرم ها هستند که به وسیله بعضی گونه های باکتریایی تولید می شوند . (به خصوص در باکتری های شاخه فیرمی کوت) اما بر خلاف L فرم ها ، باکتری های این شاخه مانند مایکو پلاسما نمی توانند دوباره دیواره سلولی را بسازند . درصد G+C این باکتریها کمتر از گرم مثبت و گرم منفی ها هستند . وژنوم کوچکتری نسبت به سایر پروکاریوت ها دارند . همگی مقاوم به آنتی بیوتیک های بتالاکتام هستند . این شاخه یک رده به نام مولیکوت دارند .

۴- مندوزی کوت ها :

پروکاریوت های فاقد پپتیدوگلیکان حقیقی بوده و شامل آرکی باکتری هاست . کارل ووز موجودات زنده را بر اساس شباهت های ژنتیکی به خصوص RNA ریبوزومی (rRNA) به ۳ سلسله تقسیم بندی کرد : ۱- سلسله یوکاریوت ها

۲- سلسله یوباکتری ها

۳- سلسله آرکی ها

۳ راه کار برای شناسایی یک میکرو ارگانسیم مجهول و قرار دادن آن در گروه های تاکسونومیک مشخص وجود دارد :

۱- طبقه بندی بر اساس صفات فنوتیپی الف- صفات شکلی ب- صفات بیوشیمیایی

ج- صفات مرفولوژیکی د- صفات الگوی حساسیت به آنتی بیوتیکها

ه- تیپ بندی بر اساس تولید پیوسین یا کلی سین (باکتریوسین)

و- تیپ بندی بر اساس حساسیت فاز

۲- طبقه بندی بر اساس صفات شیمیایی : الف- آنالیز دیواره سلولی

ب- آنالیز لیپید دیواره

ج- آنالیز پروتئین دیواره

د- نوع آنزیم

۳- طبقه بندی بر اساس ویژگی های ژنتیکی (راه کارهای فیلوژنتیکی)

الف- اندازه گیری ژنوم ب- بررسی درصد مولی G+C

ج- هیبرید DNA-DNA تحت شرایط اپتیما د- پایداری حرارتی سکانس های DNA ای مشابه

ه- هیبرید DNA-DNA تحت شرایط بالاتر از اپتیما

- از روش پایداری حرارتی سکوانس DNA می توان به ارتباط بین دو گونه پی برد .

- هیبرید DNA-DNA دقیق ترین روش برای تشخیص وابستگی یک سویه به یک گونه و شناسایی یک

گونه جدید است .

- در هیبرید DNA-DNA تحت شرایط اپتیما، تک زنجیره DNA از یک سویه با تک زنجیره DNA از سویه دوم با همدیگر هیبرید می شوند و مولکول DNA دو زنجیره ای را می سازند این روش اختصاصی است و واکنش وابسته به حرارت است.
- درصد مولی G+C اختصاصی است اما منحصر به گونه نمی باشد.

نمونه سوالات فصل ۱

- ۱- روش رنگ آمیزی باکتری ها و تهیه محیط کشت جامد توسط کدامیک از دانشمندان زیر نهاده شده است؟
الف- کخ ب- پاستور ج- هوک د- لیستر
- ۲- درصد GC دو باکتری به ترتیب ۵٪ و ۵۵٪ می باشد کدامیک از گزینه های زیر در مورد آن صدق می کند؟
الف- هر دو از یک گونه (Species) هستند ب- متعلق به یک جنس (Genus) هستند
ج- هر دو در یک خانواده قرار دارند د- هیچ قرابتی ممکن است با هم نداشته باشند.
- ۳- در گروه سلول های پروتسیت، کدامیک از موارد زیر وجود ندارد؟
الف- تک یاخته ب- باکتری ج- قارچ د- جلبک
- ۴- مجموعه ای از گونه های باکتری که صفات مشترک آنتی ژنی داشته باشند را چه می نامیم؟
الف- بیوتیپ ب- خانواده ج- سروتیپ د- جنس
- ۵- در طرح ۵ سلسله ای و تیکار، پروکاریوتها دارای چند شاخه هستند؟
الف- ۲ شاخه ب- ۱ شاخه ج- ۴ شاخه د- هیچ تقسیم بندی ندارند

پاسخنامه

- ۱- گزینه الف
- ۲- گزینه د: درصد مولی G+C در باکتری ها بین ۲۵٪-۷۵٪ است این درصد اختصاصی بوده اما منحصر به گونه نمی باشد. دو سویه G+C مشابه ممکن است متعلق به یک گونه باشد یا نباشد.
- ۳- گزینه ب: گروه پروتسیت شامل سلول های جلبک، قارچ و پروتوزوا می باشد.
- ۴- گزینه ج: مجموعه ای از سوش های باکتری که صفات مشترکی داشته باشد تحت عنوان گونه باکتری شناخته می شوند. بیوتیپ مجموعه ای از گونه هاست که صفات مشترک بیوشیمیایی داشته باشند.
- سروتیپ مجموعه ای از گونه هاست که خصوصیات مشترک سرولوژی یا آنتی ژنی دارند.
- جنس باکتری به مجموعه ای از گونه ها گفته می شود که خصوصیات مشترکی داشته باشند.
- ۵- گزینه ج: دارای ۴ شاخه گراسیلی کوتها - فیرومی کوتها، تتری کوتها، مندوزوی کوتها می باشند.

فصل ۲

میکروسکوپ

- آنچه در این فصل خواهیم آموخت :

میکرو بیولوژی معمولا با جاندارانی سرو کار دارد که اندازه آن ها به قدری کوچک است که نمی توان با چشم غیر مسلح آن ها را به طور واضح دید . به همین دلیل میکروسکوپ از اهمیت خاصی برخوردار است .

- میکروسکوپ های نوری برای شکست و تمرکز پرتوهای نوری از عدسی های شیشه ای استفاده می کنند تا تصاویر بزرگتری را از اجسام کوچک به وجود آورند . بیشترین تفکیک میکروسکوپ نوری حدود $0/2\mu M$ است .

- میکروسکوپ های الکترونی به جای نور از پرتوهای الکترونی برای ایجاد تفکیک (تا $0/5\text{ nm}$) و بزرگنمایی بسیار بالا استفاده می کنند .

- میکروسکوپ زمینه تاریک از نظر ساختار میکروسکوپ شیشه نوری است . دیافراگم هلالی دارد . دارای نوعی کندانسور مخصوص است که مانع از عبور نور و روشن شدن مستقیم نمونه می شود.

۱-۲ میکروسکوپ نوری

انواع میکروسکوپ های نوری : ۱- زمینه روشن

۲- زمینه تاریک

۳- فاز کنتراست

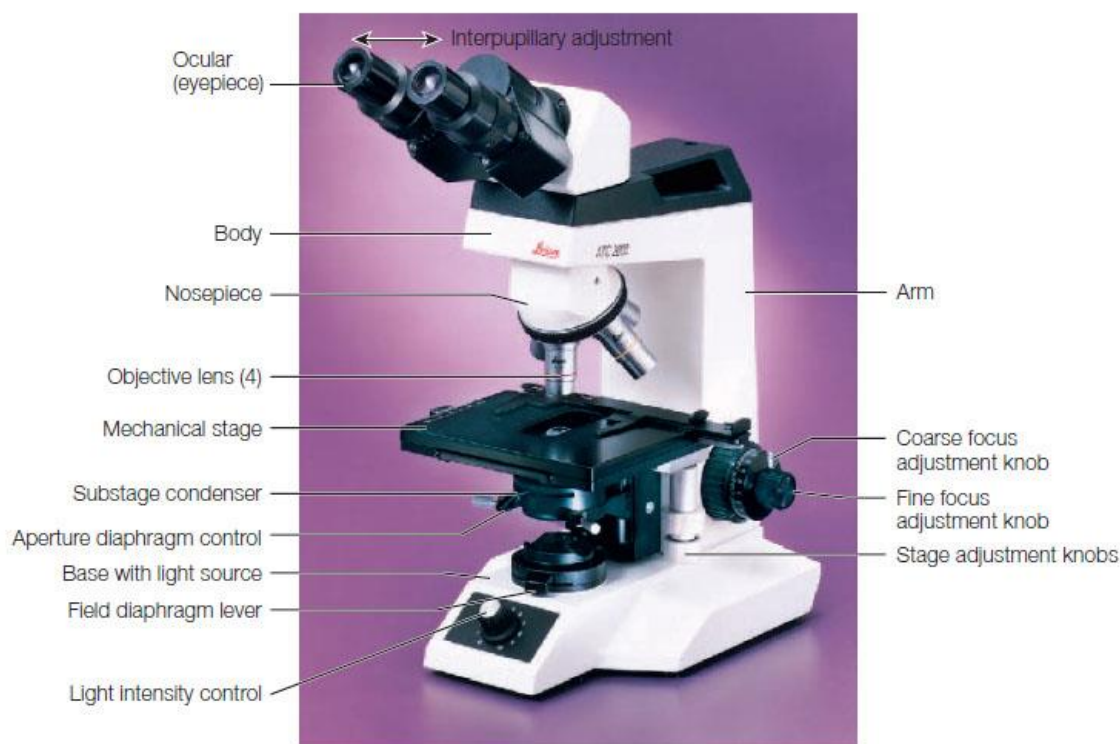
۴- فلوتو سانس

اجزای تشکیل دهنده میکروسکوپ نوری : ۱- منبع نور : روشن کردن نمونه

۲- کندانسور : متمرکز کردن نور روی نمونه

۳- عدسی های شیئی و چشمی

تصویر توسط عدسی شیئی بزرگ می شود و به وسیله چشمی ها رویت می گردد.



۲-۲- میکروسکوپ زمینه روشن :

میکروسکوپ معمولی را زمینه روشن می‌نامند زیرا تصویر تاریکی را در زمینه روشن به وجود می‌آورد. محدودیت میکروسکوپ نوری در قدرت تفکیک تصویر است یعنی فقط توانایی تشخیص دو شیئی کاملاً مجزا را دارد نه یک شیئی تنها

هنگام مشاهده یک نمونه با میکروسکوپ تصویری که شخص می‌بیند، نتیجه همکاری بین عدسی‌های شیئی و چشمی ایجاد می‌شود.

مهم‌ترین بخش میکروسکوپ عدسی شیئی آن است که باید تصویر واضحی ایجاد کند و فقط بزرگ‌تر نشان دادن آن کافی نیست. تفکیک از اهمیت بسیاری برخوردار است.

قدرت تفکیک به توانایی عدسی در جدا نشان دادن یا تشخیص بین اشیای کوچک نزدیک به هم گفته می‌شود. قدرت تفکیک میکروسکوپ نوری حدود نصف طول موج نور به کار رفته است. چون کوتاهترین طول موج مرئی حدود ۴۲۶ نانومتر است بنابراین دو نقطه با فاصله نزدیکتر از ۲۰۰ نانومتر به صورت دو تصویر جدا از هم قابل تشخیص نمی‌باشد.

ویژگی‌های عدسی شیئی میکروسکوپ :

۴× ← ضعیف

۱۰× ← ضعیف

40 X ← برای دیدن قارچ و انگل

100 X (روغنی) ← برای دیدن باکتری مخمر جزئیات و مرفولوژی میکروارگانیسم ها

۲-۳ میکروسکوپ نوری زمینه تاریک (Dark field) :

تفاوت این میکروسکوپ با میکروسکوپ نوری زمینه روشن ، کندانسور مخصوص آن است .
در این میکروسکوپ از ورود نور به داخل عدسی شیئی جلوگیری می شود .
با این میکروسکوپ می توان جانداران و سلول ها را به صورت زنده و رنگ نشده مشاهده کرد . این میکروسکوپ مشاهده ساختار درونی میکرو ارگانیسم های یوکاریوتی بزرگ را به میزان قابل توجهی ممکن می سازد . از این میکروسکوپ می توان برای تشخیص بعضی باکتری ها مثل تریپو نما پالیدوم (عامل سیفلیس) که باکتری باریکی با شکل کاملا ویژه است استفاده کرد .

۲-۴ میکروسکوپ فاز کنتراست :

مشاهده سلول های زنده رنگ نشده با میکروسکوپ زمینه روشن بسیار مشکل است . به علت اختلاف جزئی در کنتراست بین سلول و محیط آبی اطرافشان . زیرا ضریب شکست نور در سلول زنده تقریباً مشابه به ضریب شکست نور محیطی است که سلول ها در آن شناورند . برای افزایش اختلاف شکست نور بین سلول و محیط اطراف آن از میکروسکوپ فاز کنتراست استفاده می شود . استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست به ویژه برای مطالعه حرکت میکروب ها ، تعیین شکل سلول های زنده و تشخیص اجزای باکتری مثل آندوسپورها و توده های اندوخته ای حاوی مواد مختلف از جمله پلی بتا هیدروکسی الکانوات (مثل پلی بتاهید روکسی بوتیرات) ، پلی متا فسفات ، سولفور و دیگر مواد مفید است. این ساختارها به علت داشتن ضریب شکستی کاملاً متفاوت از آب به وضوح قابل مشاهده هستند.

اختلاف میکروسکوپ فاز کنتراست با میکروسکوپ نوری :

۱- وجود کنداسور ویژه ای که مجهز به یک سری از دیافراگهای حلقوی است .

۲- وجود ابژ کتیوهای خاصی که به ابژ کتیوهای فاز موسومند .

۲-۵ میکروسکوپ فلورسانس (Fluorescence microscope) :

در این میکروسکوپ به جای نور مرئی از نور ماوراء بنفش استفاده می شود . چون طول موج اشعه ماوراء بنفش کمتر از طول موج نور مرئی است ، بنابراین قدرت تفکیک این میکروسکوپ بهتر از قدرت تفکیک میکروسکوپ نوری است . در این میکروسکوپ جهت تابش نور ، برعکس میکروسکوپ نوری زمینه روشن است و اشعه ماوراء بنفش از بالا بر نمونه تابیده می شود .

یکی از رایج ترین میکروسکوپ های فلورسانس ، میکروسکوپ اپی فلورسانس است که به میکروسکوپ با نور باز خوردی یا باز تابشی نیز معروف است . نمونه معمولا با مولکول های رنگی ویژه ای به نام فلوروکروم رنگ آمیزی می شود . فلوروکروم انرژی نور انگیزی را جذب می کند و فلورسانس درخشنده ای را ایجاد می نماید . از این میکروسکوپ برای مشاهده باکتری های بیماریزا مثل مایکو باکتریوم توبرکلوزیس استفاده می شود . همچنین در میکرو بیولوژی پزشکی ، اکولوژی ، به یک ابزار سودمند تبدیل شده است . از جمله رنگهایی که برای رنگ آمیزی فلورسانتی استفاده می شود :

اورامین ، نارنجی اکریدین ، سولفات بربرین ، پریمولین ، تیوفلاوین ، تریپافلاوین ، زردتیز و مورین .

۲-۶ میکروسکوپ الکترونی :

این میکروسکوپ ها قدرت تفکیک بسیار بالاتری نسبت به میکروسکوپ های نوری دارند . قدرت تفکیک میکروسکوپ الکترونی حدود ۱ تا ۱ میلی میکرون است و قدرت بزرگنمایی آن حدود صد هزار برابر است .

انواع میکروسکوپ الکترونی : ۱- میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن (انتقالی) (Transmission Electron Microscope) TEM

۲- میکروسکوپ الکترونی اسکینینگ (نگاره) SEM (Scanning Electron Microscope)

۳- میکروسکوپ الکترونی شکست انجمادی

آماده سازی نمونه برای SEM ساده است . در بیشتر موارد میکرو ارگانسیم ها ابتدا تثبیت ، آبیگری و خشک می شوند . این امر ساختار سطحی نمونه را حفظ می کند و از جمع شدگی و مچاله شدن سلول ها هنگام قرار گرفتن در خلاء بالای SEM جلوگیری می کند . برای جلوگیری از ایجاد بار الکتریکی روی سطح نمونه و به دست آوردن تصویری بهتر ، نمونه های خشک شده را قبل از مشاهده با لایه نازکی از فلز چسبانده و می پوشانند . در این میکروسکوپ ها یک تصویر ۳ بعدی واقعی از سطح میکرو ارگانسیم حاصل می شود .

با استفاده از میکروسکوپ TEM می توان ساختار ویروس ها ، واکوئل های گازی باکتری و دیگر اجزای مشابه را مشاهده کرد. این میکروسکوپ همچنین در مطالعه شکل ویروس تازه های پروکاریوتی و مولکول DNA مفید است .

۲-۷ میکروسکوپ کونفوکال (CSLM) (Confocal Microscope)

این میکروسکوپ از یک پرتو لیزر برای روشن کردن نمونه استفاده می کند و نمونه نیز معمولا با روش فلورسانتی رنگ آمیزی شده است . این میکروسکوپ کاربردهای زیادی دارد از آن جمله مطالعه بیو فیلم هاست که ممکن است در سطح مواد بسیار متنوعی از جمله وسایل پزشکی ، پروتز مثل پروتز مفصل ران تشکیل شوند .

سوالات مربوط به فصل ۲

- ۱- در کدامیک از موارد زیر قدرت تفکیک میکروسکوپ برابر با نصف طول موج نور می باشد ؟
- الف- میکروسکوپ الکترونی ترانس میسون
ب- میکروسکوپ نوری
ج- میکروسکوپ الکترونی مقطع نگار
د- تمام موارد
- ۲- اگر در سوسپانسیون باکتری ها که رنگ آمیزی نشده باشد بخواهیم ارگانسیم هایی از قبیل اسپیروکت ها را ببینیم کدامیک از میکروسکوپ های زیر ، مناسب است ؟
- الف- میکروسکوپ زمینه تاریک
ب- میکروسکوپ الکترونی مقطع نگار
ج- میکروسکوپ نوری
د- میکروسکوپ ایمونوفلوئورسانس
- ۳- برای مطالعه حرکت میکروب ها و تشخیص اجزای باکتری مثل اندوسپور و دانه های ذخیره از کدام میکروسکوپ استفاده می شود ؟
- الف- فاز کنتراست
ب- نوری
ج- فلورسانس
د- زمینه تاریک
- ۴- در کدام میکروسکوپ های زیر برای مشاهده نمونه و رنگ آمیزی آن از فلوروکروم استفاده می شود ؟
- الف- الکترونی
ب- نوری
ج- فلورسانس
د- فاز کنتراست
- ۵- از میکروسکوپ CSLM (کونفوکال) برای کدام موارد زیر استفاده می شود ؟
- الف- مشاهده تریونما پالیدوم
ب- مطالعه بیوفیلم ها در سطح وسایل پزشکی
ج- مشاهده واکوئل های گازی
د- مطالعه شکل ویروس ها

پاسخنامه :

- ۱- گزینه ب : قدرت تفکیک میکروسکوپ نوری در حدود نصف طول موج نور است . در محدوده ی نور مرئی که طول موج نور در حدود 0.4 میکرون است حداقل فاصله قابل تشخیص در میان دو نقطه و یا قدرت تفکیک برابر با 0.2 میکرون خواهد بود . در میکروسکوپ های الکترونی از پرتوهای الکترونی استفاده می شود که نسبت به فوتون های نور، طول موج بسیار کوتاه تری دارند.
- ۲- گزینه الف- از میکروسکوپ زمینه تاریک به ویژه برای مشاهده تحرک اسپیروکت های سیفلیس استفاده می شود . در این میکروسکوپ کندانسور ویژه ای وجود دارد که از عبور مستقیم نور ، ممانعت کرده و آن را با زاویه ای منحرف می سازد . اگر باکتری های موجود در نمونه میکروبی نور را از طریق انعکاس یا شکست نور پخش کنند نور وارد عدسی های شیئی می شود و نمونه مورد نظر به صورت روشن در زمینه تاریک آشکار می گردد .
- ۳- گزینه الف

فصل ۳

ساختمان و عملکرد سلول پروکاریوتی :

- آنچه در این فصل خواهیم آموخت :

- تفاوت پروکاریوتها از یوکاریوتها از روی ساختار و ترکیب مولکولی

- پروکاریوتها را می توان به ۲ گروه اصلی تقسیم بندی کرد : باکتریها و آرکی ها

- باکتریها را می توان بر اساس ساختار دیواره سلولی به ۲ گروه وسیع تقسیم کرد : g^+ و g^-

- حرکت باکتریها

- مکانیسم های مقاومت باکتریها در برابر شرایط نامساعد محیطی

۳-۱ مروری بر ساختار سلول پروکاریوتی

باکتریها از نظر ساختمانی ساده هستند . آنها ارگانیزم های پروکاریوت هستند که تک سلولی بوده و فاقد غشاء هسته

ای ، میتوکندری ، دستگاه گلژی یا رتیکولو اند و تلیال که با تقسیم غیر جنسی تکثیر می شوند .

باکتری ها دارای یکی از ۳ شکل کوکسی (کروی) و باسیلی (میله ای) و مارپیچی (اسپیریلیوم) می باشند .

کوکسی :

۱-دیپلو کوکوس

۲-کوکوس

۳-زنجیره ای از کوکوس ها :انتروکوکوس ، استرپتوکوکوس ، لاکتوکوکوس

۴-خوشه های نامنظم شبیه انگور : استافیلوکوکوس اورئوس

۵-آرایش ۸ تایی (مکعبی) :سارسینا

۶-تتراد (۴ تایی) : میکروکوکوس

-باسیلی : باسیلوس مگاتریوم

-اسپریل : اسپروکت ها (تریبونما پالیدوم)

سلول های پروکاریوتی از نظر مرفولوژی (morphology) (ریخت شناسی) ساده تر از سلول های یوکاریوتی

هستند با این که برخی ساختارها در هر دو نوع سلول مشترک است اما بعضی ساختارها در پروکاریوتها منحصر به فرد

است .

TABLE 3–3. Functions of the Bacterial Envelope

Function	Component
Structure	
Rigidity	All
Packaging of internal contents	All
Bacterial Functions	
Permeability barrier	Outer membrane or plasma membrane
Metabolic uptake	Membranes and periplasmic transport proteins, porins, permeases
Energy production	Plasma membrane
Motility	Flagella
Mating	Pili
Host Interaction	
Adhesion to host cells	Pili, proteins, teichoic acid
Immune recognition by host	All outer structures
Escape from host immune recognition	Capsule, M protein
Medical Relevance	
Antibiotic sensitivity	Peptidoglycan synthetic enzymes
Antibiotic resistance	Outer membrane

در جدول ۲-۳ به برخی ساختارهای پروکاریوتی و عملکرد آنها اشاره شده است .

جدول ۲-۳	عملکرد های ساختارهای پروکاریوتی
غشای پلاسمایی	سدی با نفوذ پذیری انتخابی ، مرز مکانیکی سلول ، عبور و مرور مواد مغذی و زائد ، محل بسیاری از فرآیندهای متابولیکی (تنفس و فتوسنتز) ، تشخیص علائم محیطی برای شیمیوتاکسی
واکوئل گازی	برای شناور شدن در محیط های آبی
ریبوزوم ها	سنتز پروتئین
توده های اندوخته ای	ذخیره کردن کربن ، فسفات و ...
نوکلئوئید	محل قرار گیری ماده ژنتیکی (DNA)
فضای پری پلاسمی	حاوی آنزیم های هیدرولیتیک و پروتئین های اتصال برای فرآوری و جذب مواد مغذی
دیواره سلولی	تعیین کننده شکل باکتری و حفاظت در برابر استرس های اسمزی
کپسول ها و لایه های مخاطی	مقاومت به فاگوسیتوز ، چسبیدن به سطوح
فیمبری و پیلی	اتصال به سطوح ، جفت گیری باکتریایی
تاژه ها	حرکت
اندوسپور	بقا تحت شرایط سخت محیطی

TABLE 3–2. Bacterial Membrane Structures

Structure	Chemical Constituents
Plasma membrane	Phospholipids, proteins, and enzymes involved in generation of energy, membrane potential, and transport
Cell Wall	
<i>Gram-positive bacteria</i>	
Peptidoglycan	Glycan chains of GlcNAc and MurNAc cross-linked by peptide bridge
Teichoic acid	Polyribitol phosphate or glycerol phosphate cross-linked to peptidoglycan
Lipoteichoic acid	Lipid-linked teichoic acid
<i>Gram-negative bacteria</i>	
Peptidoglycan	Thinner version of that found in gram-positive bacteria
Periplasmic space	Enzymes involved in transport, degradation, and synthesis
Outer membrane	Phospholipids with saturated fatty acids
Proteins	Porins, lipoprotein, transport proteins
LPS	Lipid A, core polysaccharide, O antigen
<i>Other structures</i>	
Capsule	Polysaccharides (disaccharides and

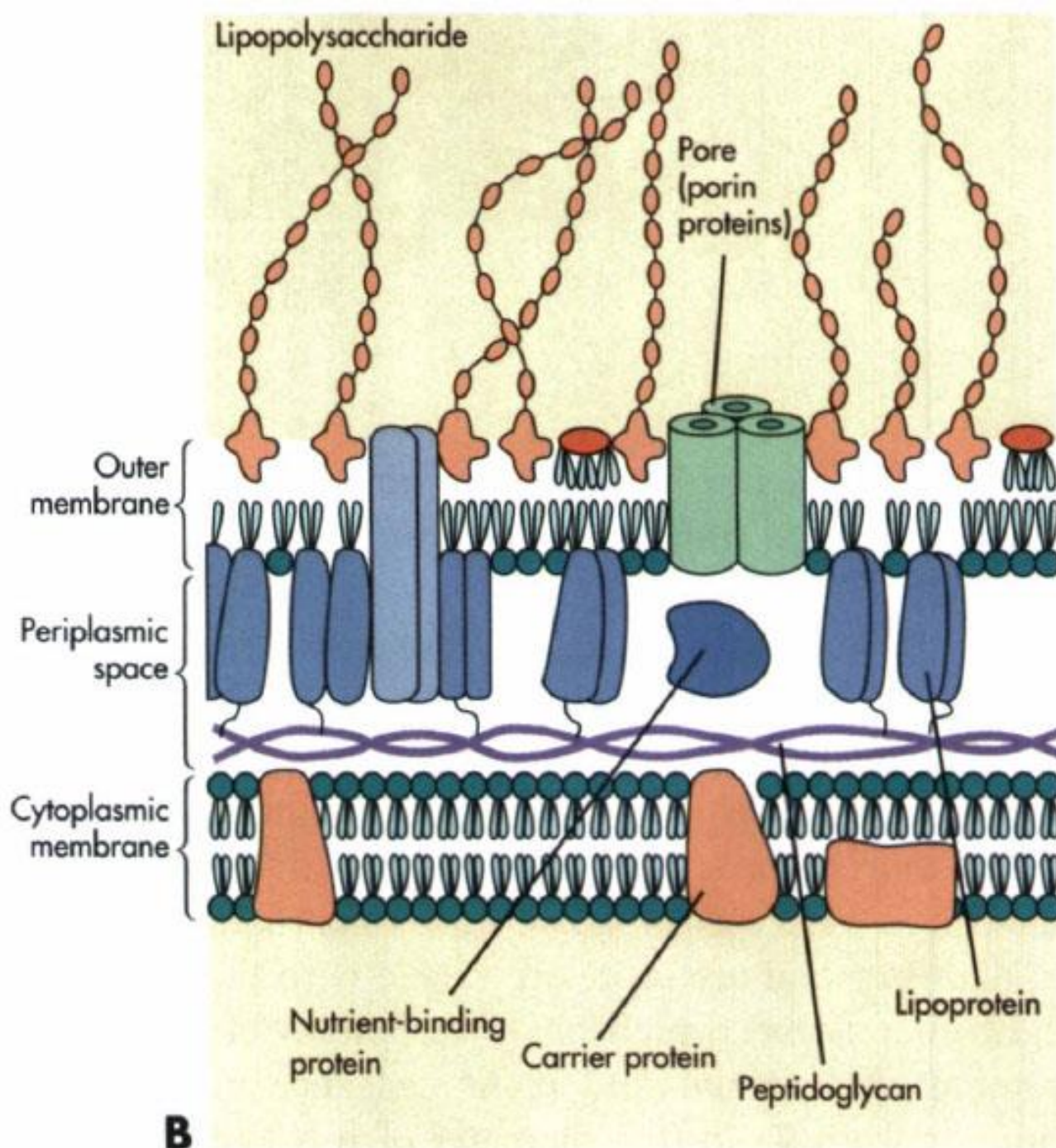
غشای پلاسمایی در هر دو سلول پروکاریوتی و یوکاریوتی سیتوپلاسم را احاطه می کند. غشاء سیتوپلاسمی باکتری ساختار ۲ لایه لیپیدی مشابه غشا یوکاریوتی است با این تفاوت که فاقد استروئیدها مانند کلسترول می باشند. تنها پروکاریوتی که در غشاء خود دارای استرول است جنس میکوپلازما می باشد. غشا سیتوپلاسمی در پروکاریوت ها نسبت به یوکاریوت ها اهمیت بیشتری دارد. زیرا در پروکاریوتها اعمال بسیاری از اندامک ها که وجود ندارند به عهده غشاء سیتوپلاسمی است مانند سیستم انتقال الکترون و تولید انرژی.

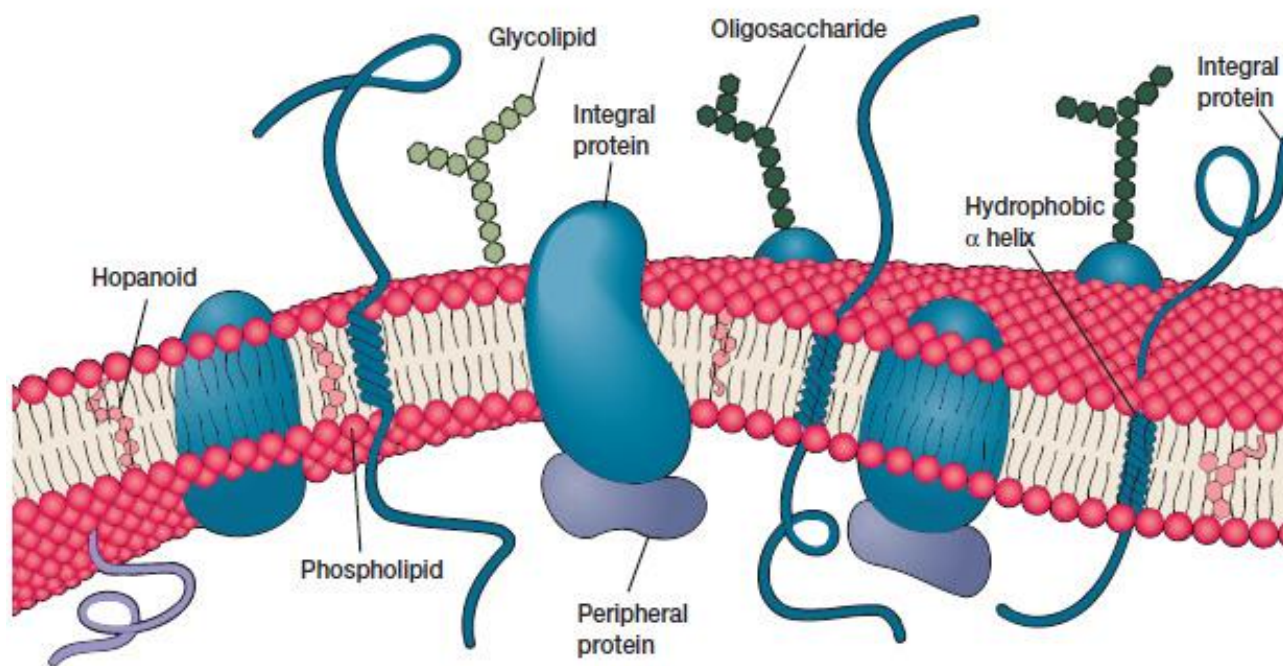
غشاهای پروکاریوتی از نظر محتوای لیپیدی ممکن است کاملا متفاوت باشند. با استفاده از تفاوت در شیمی غشاهای می توان گونه های خاصی از باکتری ها را تشخیص داد.

برای مطالعات غشا بیشتر از میکروسکوپ الکترونی گذاره استفاده می شود. این مطالعات نشان داد غشا دارای ضخامت تقریبی ۱۰-۵ میکرومتر به صورت ۲ خط تیره در دو طرف یک ناحیه ی بی رنگ داخلی به نظر می رسند. پروتئین های غشایی به ۲ گروه تقسیم می شدند که شامل پروتئین های محیطی و پروتئین های سرتاسری هستند. پروتئین های محیطی اتصالی سستی با غشا دارند و به راحتی کنده می شوند. و محلول در آب هستند و حدود ۳۰-۲۰ درصد کل پروتئین های کل غشا را شامل می شوند. حدود ۸۰-۷۰ درصد بقیه پروتئین های غشاء پروتئین های سرتاسری هستند که نمی توان آنها را به سهولت از غشا استخراج کرد. و هنگام جدا شدن از لیپیدها در محلول های آبی نامحلول هستند. این ها ۲ گانه دوست هستند و نواحی آب گریز آنها در لیپید محصور شده ولی بخش های آبدوست آن ها از سطح غشا بیرون زده است. غشاهای باکتریایی از نظر داشتن مقادیر زیادی از فسفو لیپیدها به عنوان لیپیدهای دوگانه دوست با غشاهای یوکاریوتی شباهت دارند. تنها تفاوت آنها نداشتن استرول ها (لیپیدهای حاوی استروئید) است. بسیاری از غشاهای باکتریایی حاوی مولکول های استروئید مانند به نام هویانوئید هستند. احتمالا هویانوئیدها همانند استرول های غشاهای یوکاریوتی سبب پایداری غشا می شوند.

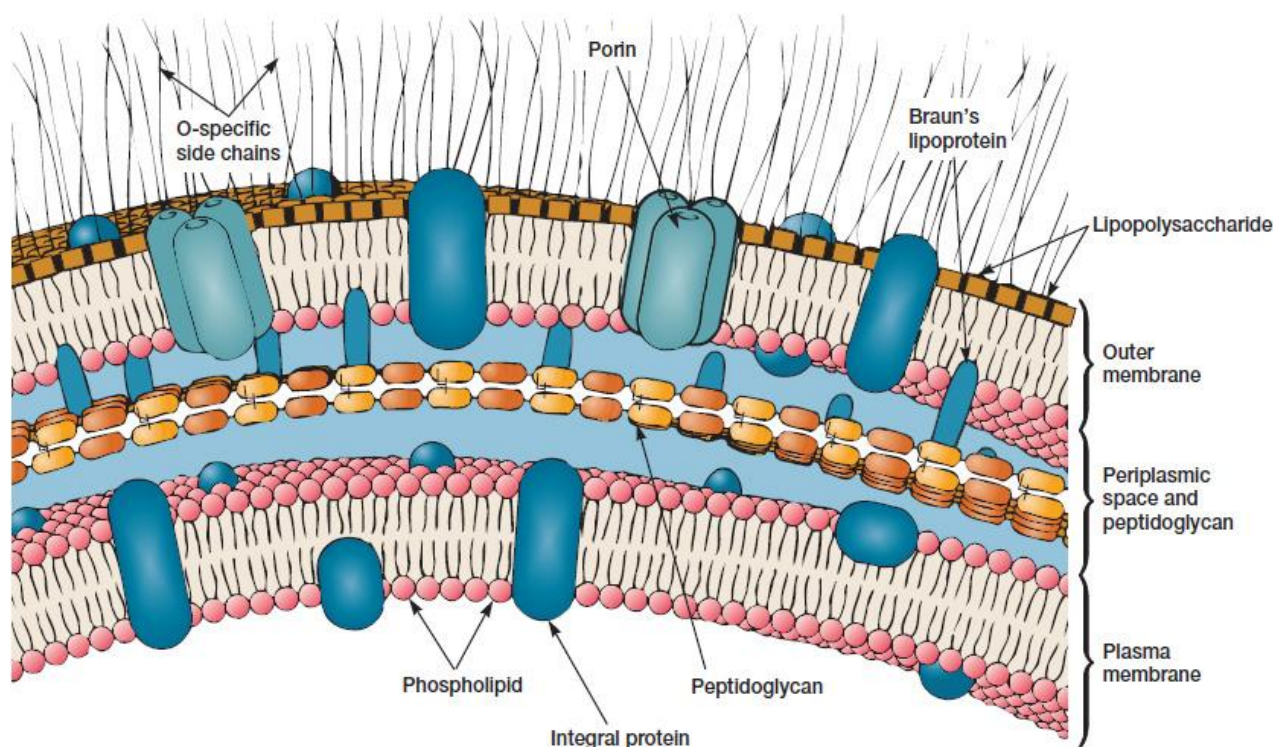
نقش های غشاء سیتوپلاسمی باکتری ها :

- سد نفوذ ناپذیر
- جایگاه سیستم های انتقال برای مواد محلول
- جایگاه تولید انرژی
- سنتز لیپیدهای غشایی (LPS)
- سنتز پپتیدوگلیکان (مورئین)
- ترشح پروتئین های خارج سلولی
- همراهی با همانند سازی DNA
- شیمیوتاکسی
- جایگاه سیستم آنزیمی خاص





www.nokhb.com



یکی از نقش های غشا سیتوپلاسمی انتقال مواد است . سیستم های انتقالی که در غشا سیتوپلاسمی وجود دارد از ۳ فرآیند انتقالی استفاده می کنند :

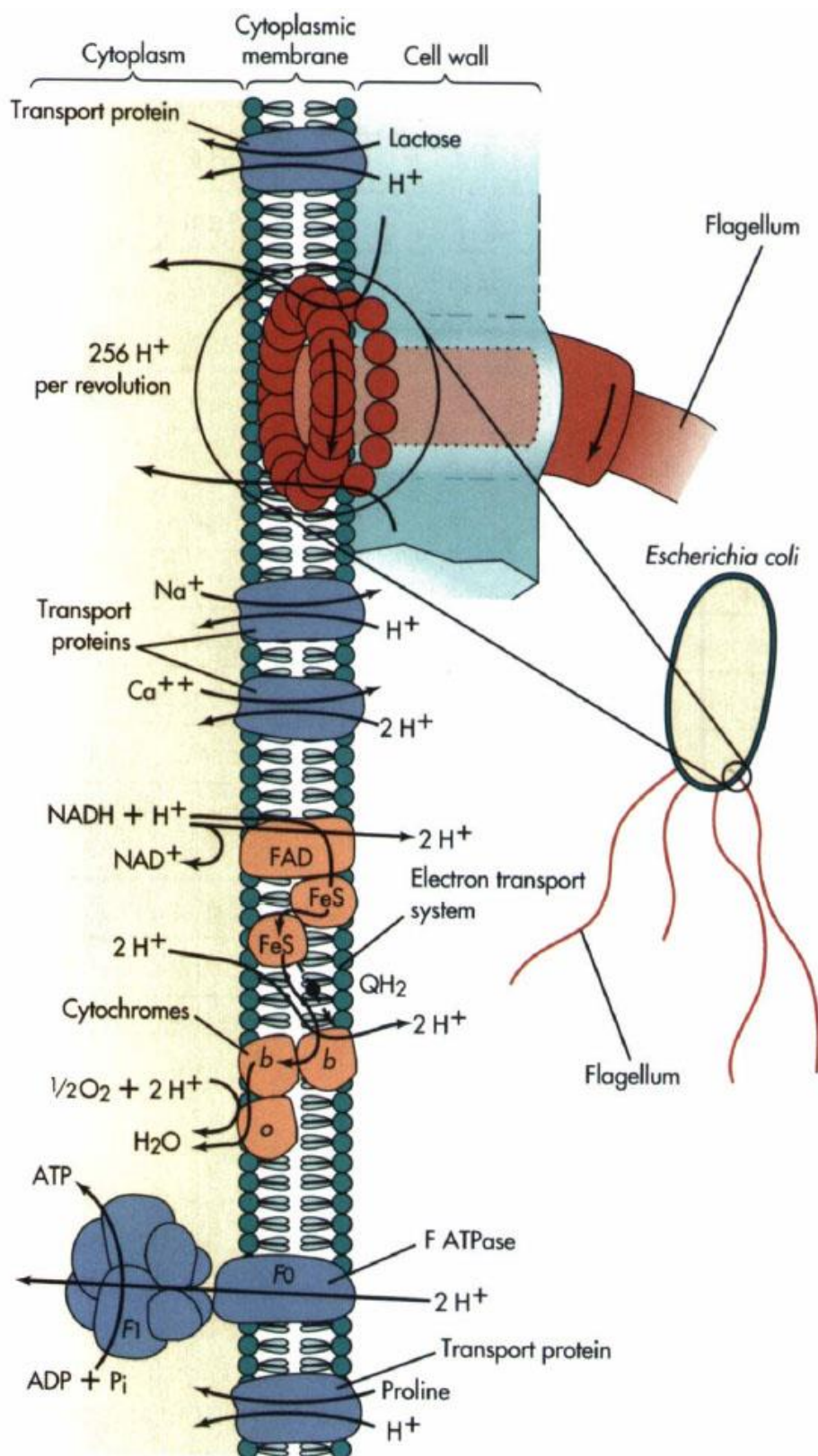
- ۱- یونی پورت (uniport) : ورود ماده محلول در ۱ جهت
- ۲- سیم پورت (symport) = (کوترانس پورت) (cotransport) : ورود ۲ ماده محلول در یک زمان و در یک جهت به داخل سلول
- ۳- آنتی پورت (Antiport) : ورود یک ماده محلول در یک زمان و خروج محلول دیگر در همان زمان در جهت مخالف

۵ نوع سیستم انتقالی در غشا وجود دارد :

- ۱- انتقال غیر فعال (Passive Transport)
- ۲- انتقال تسهیل شده (Faciliated Transport)
- ۳- انتقال وابسته به یون (Ion Driven Transport System) برای ورود یون ها ، اسیدهای آمینه ، قندها
- ۴- انتقال وابسته به پروتئین های اتصال (Binding protein Dependent transport) (مثل ورود هیستیدین به داخل سلول باکتری)

۵- جا به جایی گروهی (سیستم فسفو ترانسفراز) (برای انتقال قندها)
 ورود گلیسرول به داخل سلول : انتقال تسهیل شده (بدون نیاز به انرژی)
 انتقال لاکتوز از طریق لاکتوز پرمئاز: انتقال وابسته به یون (با صرف انرژی) مدل انتقال سیم پورت می باشد که با ورود پروتون ، لاکتوز هم از طریق لاکتوز پرمئاز که یک پروتئین در عرض غشایی است وارد سلول می شود .

ویژگی	انتقال غیرفعال PD	انتقال تسهیل شده FD	انتقال با واسطه یون IDT	انتقال وابسته به پروتئین های اتصال BPDT	جابه جایی گروهی GT
با واسطه حامل	-	+	+	+	+
ورود بر خلاف شیب غلظت	-	-	+	+	NA
اختصاصی بودن	-	+	+	+	+
مصرف انرژی	-	-	نیروی محرکه پروتونی PMF	ATP	PEP فسفوانول پیروات
تغییر شکل ماده محلول طی انتقال	-	-	-	-	+



برخلاف انتقال غیر فعال در بقیه سیستم های انتقالی نیاز به حامل است .

-سیستم انتقال هستیدین در ECOLI شامل ۴ پروتئین است . ۲ پروتئین در غشا کانال ایجاد می کنند ۱ پروتئین در فضای پری پلاسمی به اسید آمینه هستیدین می چسبد و پروتئین چهارم هستیدین را وارد کرده و ATP را هیدرولیز می کند .

ساختارها و پیچیدگی های غشاء پلاسمایی :

چین خوردگی های غشای پلاسمایی بیشتر در باکتری هایی که اعمال فتوسنتز انجام می دهند مثل سیانو باکتری ها و سیانو باکتری های ارغوانی یا باکتری هایی که فعالیت تنفسی بالایی دارند مثل باکتری های شوره گذار بسیار شایع است . مزوزوم یکی از پیچیدگی های غشایی است که می تواند در سطح یا عمق سیتوپلاسم باشد و در تمام باکتری های گرم مثبت و گرم منفی وجود دارد و ۲ نوع می باشد :

۱- مزوزوم دیواره ای : نقش در همانند سازی DNA و تقسیم سلول

۲- مزوزوم کناری : محل آنزیم های هیدرولیز کننده

۳-۳ تفاوت غشاهای آرکی ها و باکتری ها :

آرکی ها به جای داشتن اسیدهای چرب متصل به گلیسرول با پیوند استری ، دارای هیدروکربن های شاخه دار متصل به گلیسرول با پیوندتری هستند . در آرکی های به شدت گرما دوست مثل Thermoplasma (ترموپلازما) و sulfolobus (سولفولوبوس) که در دماهای بالای 85°C بهترین رشد را دارند غشاها پایدارترند و تقریباً کل غشا از تک لایه تترائتری تشکیل شده است .

۳-۴ ماتریکس سیتوپلاسمی :

ماده زمینه ای کاملاً آبی که نوکلئوئید ، ریبوزوم ها و توده های اندوخته ای در آن پراکنده اند و فاقد اندامکهای محصور در ۲ لایه لیپیدی است و بخش اعظم پروتوپلاست را تشکیل می دهد . به غشای پلاسمایی و هر چه در آن است پروتوپلاست می گویند . ماتریکس سیتوپلاسمی مملو از ریبوزوم هاست .

۳-۵ اسکلت سلولی

رشته های اسکلت سلولی پروکاریوتها از نظر ساختاری مشابه با رشته های همسان در یوکاریوتها بوده و عملکردهای مشابهی را دارند : ۱- تقسیم سلولی

۲- متمرکز کردن پروتئین ها به محل های خاصی از سلول

۳- تعیین شکل سلول

جدول	پروتئین های اسکلت سلولی پروکاریوتی	توضیحات
پروتئین های پروکاریوتی (همسان عملکرد)		
FtsZ (توبولین)	تقسیم سلول	به طور گسترده ای در باکتریها و آرکی ها دیده می شود
MreB (اکتین)	تقسیم سلول	در بسیاری از باکتریهای میله ای شکل دیده شده این پروتئین در باسیلوس سابتیلیس به Mb1 معروف است
کرستین (پروتئین های رشته شکل سلول حدواسط)		در کائولو باکتر (Caulobacter) کشف شد

۳-۶ توده های اندوخته ای

دانه هایی از مواد آلی یا معدنی هستند که در ماتریکس سیتوپلاسمی موجودند و برای ذخیره ترکیبات کربنی مواد معدنی و انرژی و ... استفاده می شوند . همچنین باعث کاهش فشار اسمزی هم می کردند . بعضی توده های اندوخته ای در سیتوپلاسم به شکل آزاد و برخی دیگر محصور در غشایی تک لایه به ضخامت ۲ تا ۴ میکرو متر می باشند . این غشا ممکن است از جنس پروتئین یا پروتئین ها با فسفو لیپید ها باشد .

مثال هایی از انکلوزیون ها (دانه های اندوخته ای) در سلول باکتری

۱- پلی بتاهیدروکسی بوتیرات (PHB) : هیدروکسی بوتیرات پلیمریزه شده است که منبع ذخیره انرژی و کربن می باشد و در باکتریهایی مثل سودوموناس و بسیاری دیگر دیده شده در زیر میکروسکوپ نوری با سودان سیاه قابل مشاهده است .

۲- کلروزوم ها : متشکل از لیپید پروتئین و باکتروکلروفیل است . در باکتریهای سبز دیده شده و محل آنها در پیگمان های نوری باکتری است .

۳- فیکوبیلی زوم ها : متشکل از فیکوبیلی پروتئین اند و در سیانو باکتری ها دیده شده و در پیگمان های نوری باکتری قرار دارند .

۴- کربوکسی زوم ها : در باکتری های اتو تروف و سیانو باکتری ها وجود دارند . حاوی آنزیم ریبولوزا -

۵- بیس فسفات کربوکسیلاز (رویسکو) بوده ، کربوکسی زوم ها محل تثبیت CO_2 هستند .

۵-دانه های سیانوفیسین : از پلی پپتیدهای بزرگ حاوی اسید آمینه های آرژنین و آسپارتیک اسید تشکیل شده اند و یکی از ۲ توده اندوخته ای سیانو باکتری ها هستند .

۶-مگنتازوم ها : حاوی مگنتیت (اکسید آهن) یا Fe_3O_4 هستند که در بسیاری باکتریها به خصوص باکتری های آبی برای جهت یابی در مناطق مغناطیسی کاربرد دارند .

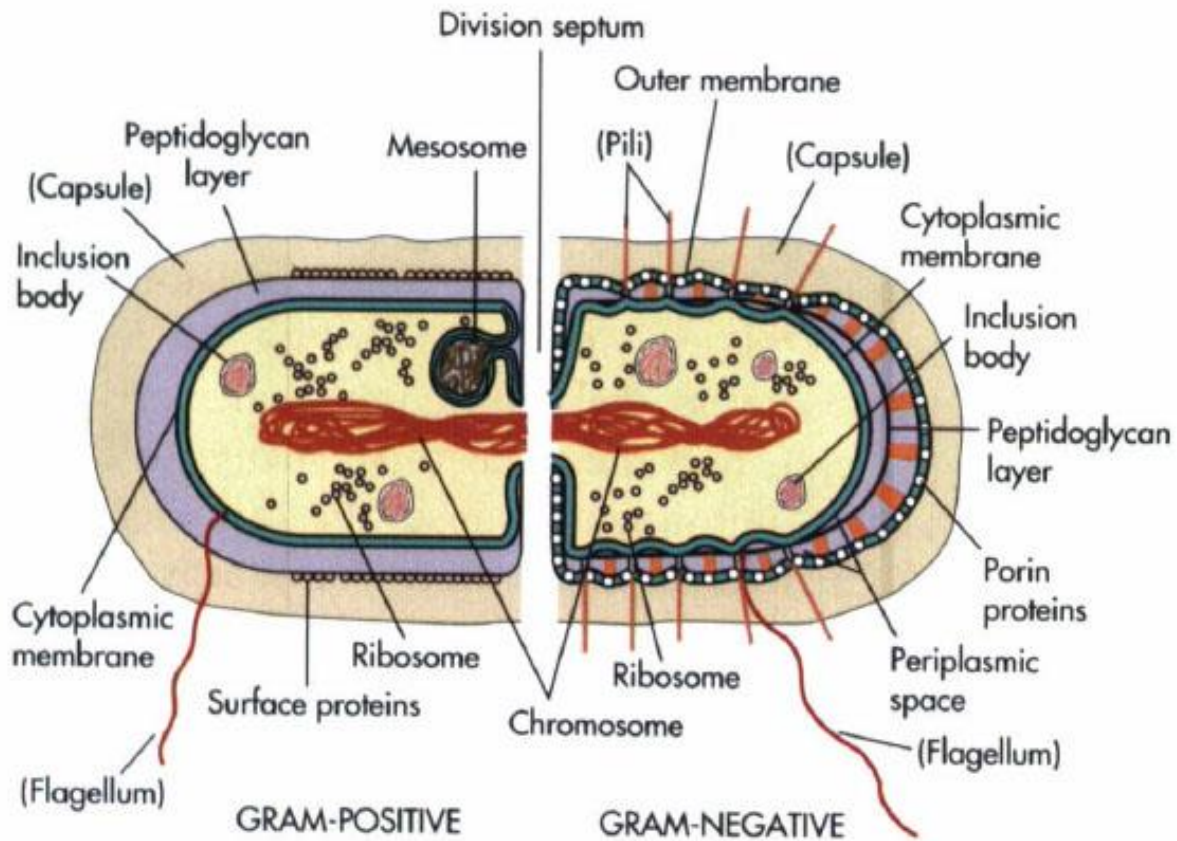
۷-وزیکول های گازی : پوسته پروتئینی پر شده با گاز است که سبب شناوری باکتری در حجم های مختلف آب می شود و در باکتری های زیادی مثل سیانو باکتری ها دیده می شود . در *Halobacterium* (آرکی نمک دوست) و *Thiothrix* (باکتری رشته ای) دیده می شود .

۸-گرانول های سولفوری : حاوی گوگرد عنصری هستند و در باکتری های گوگردی ارغوانی فتوسنتز کننده و باکتری های لیتو تروفی سولفوری دیده می شوند و منبع ذخیره های الکترون در فتوتروفها و منبع ذخیره انرژی در لیتو تروف هاست .

۹-گرانول های پلی فسفات (گرانول های ولوتین) : حاوی پلی مرهای خطی PO_4 هستند که منبع ذخیره فسفات هستند و در باکتری هایی مثل کورینه باکتریوم دیده می شوند .

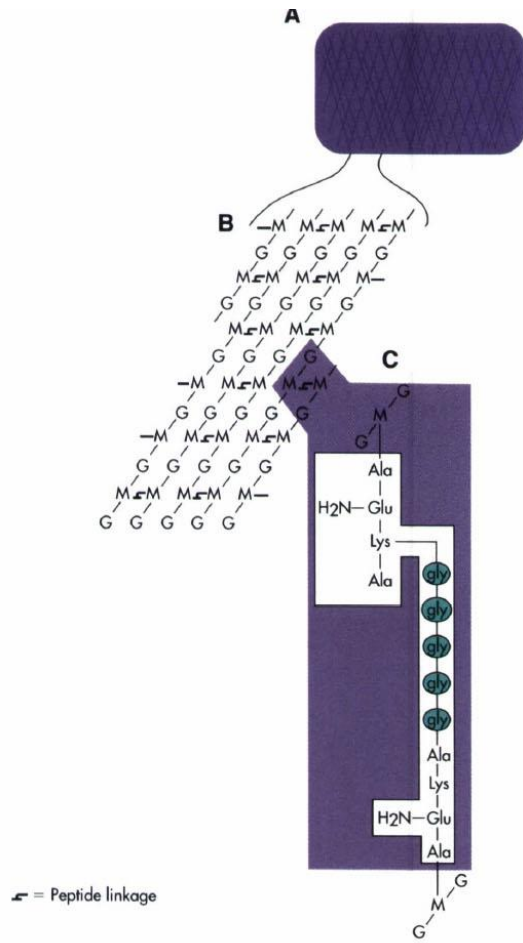
۳-۷ دیواره سلولی : (Cell Wall)

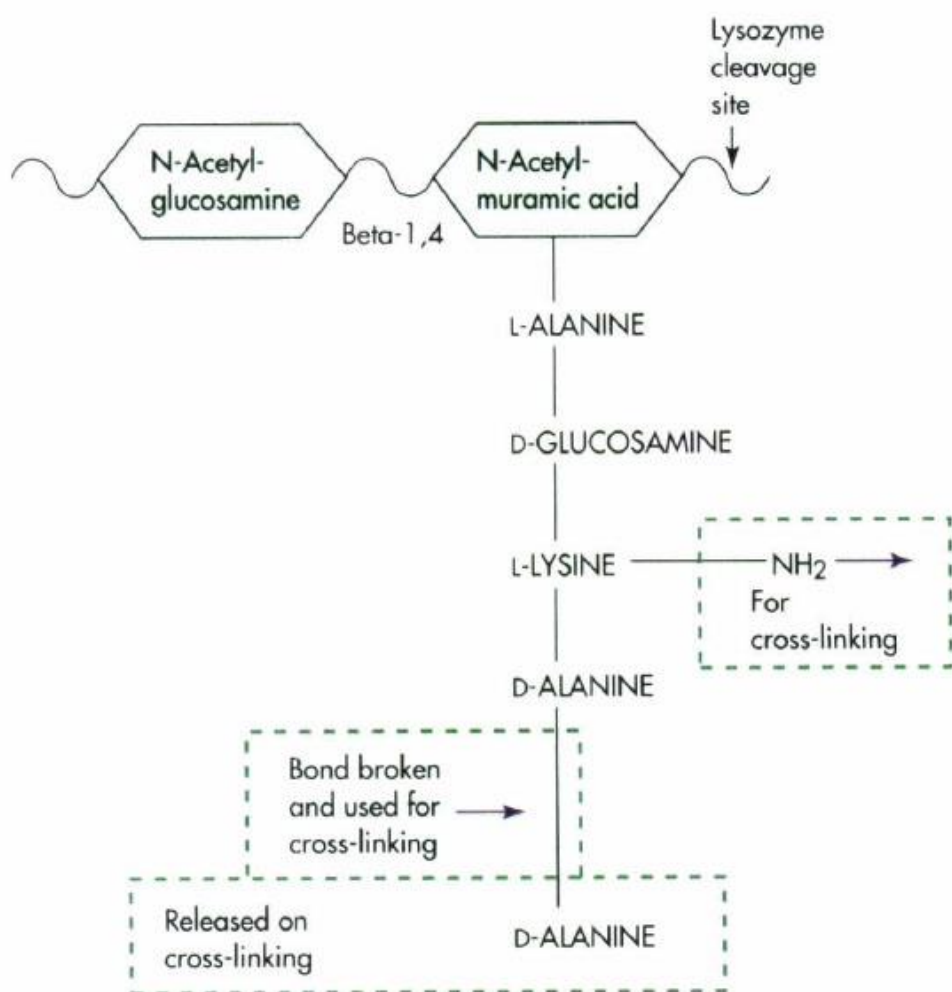
لایه سختی است که در بیرون غشای پلاسمایی قرار گرفته است . تمام باکتریها به استثناء مایکو پلاسماها دارای دیواره سلولی هستند . سختی دیواره سلولی وابسته به پپتیدوگلیکان است که در همه باکتری های دیواره دار به جز کلامیدیاها (gr^- فاقد پپتیدوگلیکان) وجود دارد .

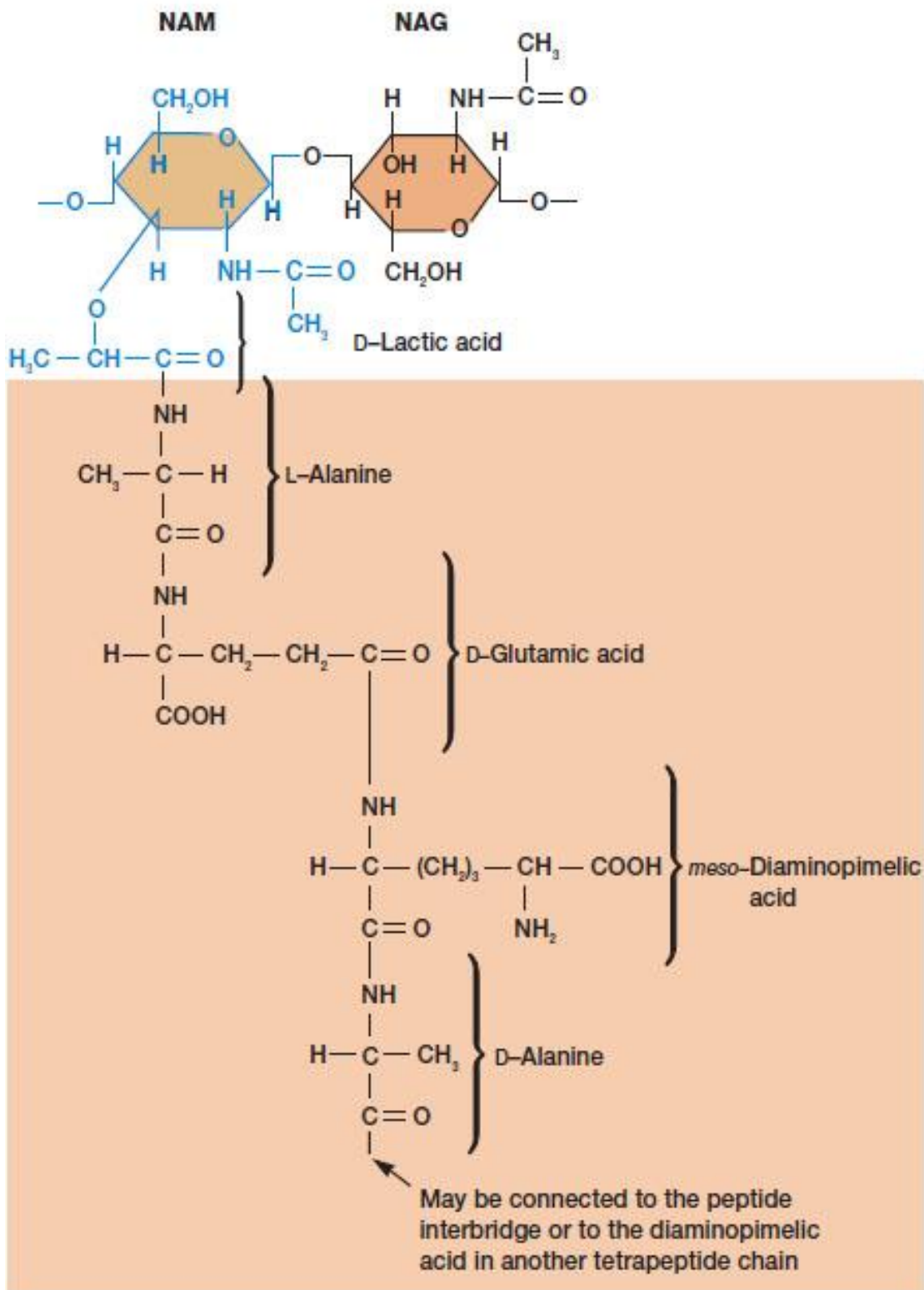


۳-۸ ساختار پپتیدوگلیکان (Peptidoglycan Structure)

پپتیدوگلیکان یا مورئین پلیمر شبکه ای عظیمی است که از تعداد زیادی زیر واحد یکسان تشکیل شده است این پلیمر حاوی دو مشتق قندی N- استیل گلوکز آمین (NAGA) و N- استیل مورامیک اسید (NAMA) است همچنین از انواع مختلفی از آمینواسید ها تشکیل شده است .







پپتیدوگلیکان دارای ۳ ترکیب است که در پلی مرهای یوکاریوتی یافت نمی شود :

۱- اسیدهای آمینه D

۲- N- استیل موآرامیک اسید (NAMA)

۳- دی آمینو پایمیلیک اسید (DAPA)

اسکلت اصلی پلیمر پپتیدوگلیکان از قرار گیری یک در میان واحدهای N- استیل گلوکز آمین و N استیل موآرامیک اسید تشکیل شده است . زنجیره پپتیدی با چهار آمینو اسید متناوب D و L به گروه کربوکسیل N - استیل موآرامیک متصل است . بسیاری از باکتری ها به جای مزودی آمینو پایمیلیک اسید از دی آمینو اسید دیگری که معمولاً لیزین است استفاده می کنند .

تتراپتید متشکل از ۴ اسید آمینه بوده :

اسید آمینه اول : L- آلانین

اسید آمینه دوم : D- گلوتامیک اسید

اسید آمینه سوم : > دی- آمینو پایمیلیک اسید (در گرم منفی ها)

L - لیزین (در گرم مثبت ها)

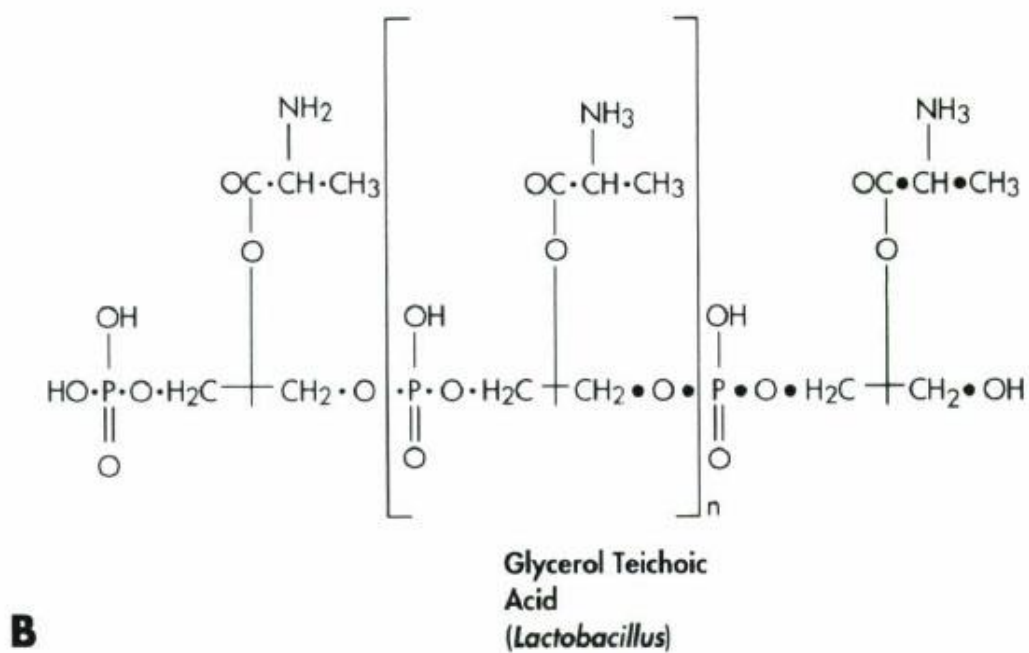
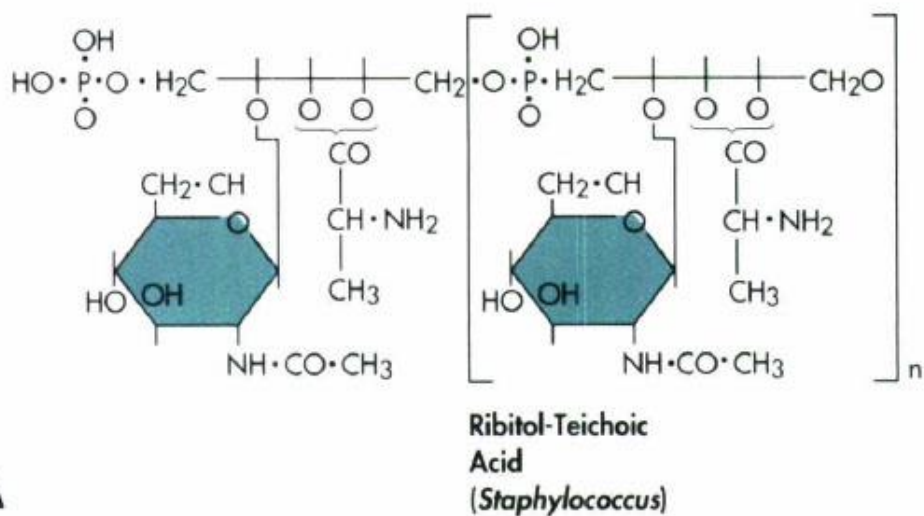
اسید آمینه چهارم : D- آلانین

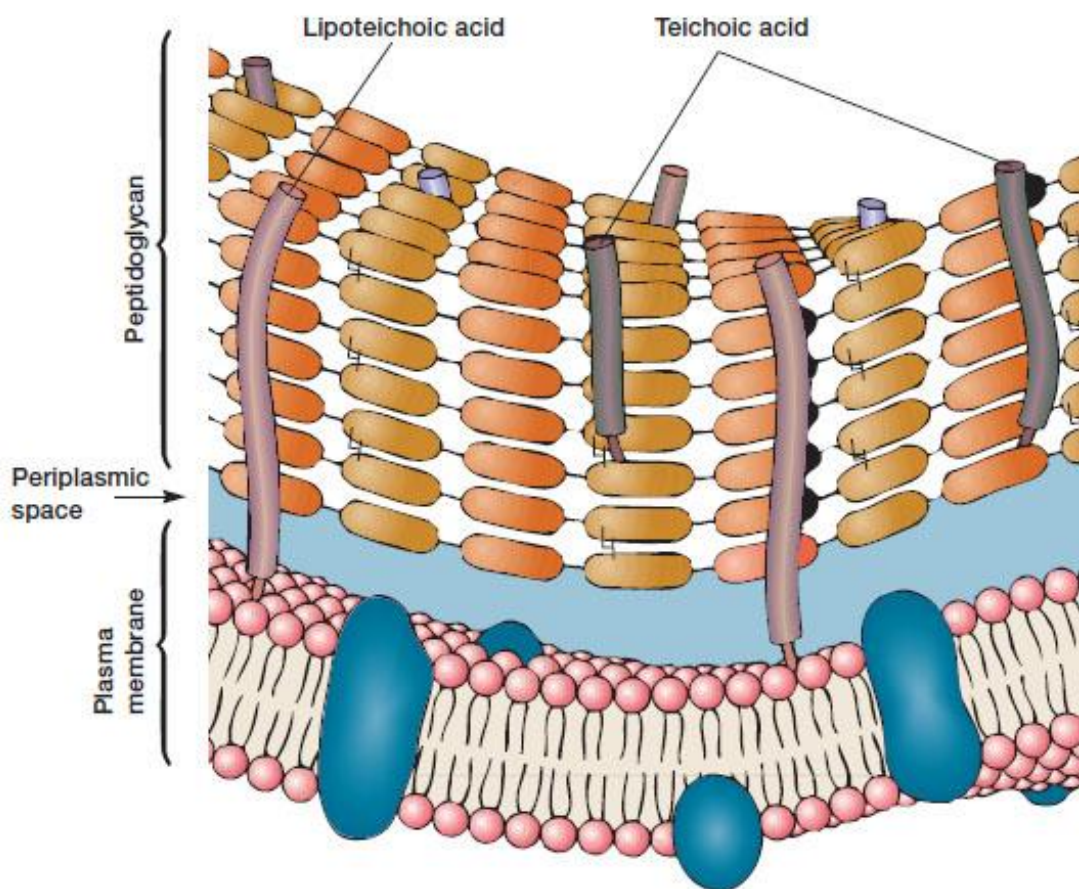
نکته : در آرکی ها پپتیدو گلیکان وجود ندارد و به جای آن سود و مورثین یا سود و پپتیدو گلیکان (پپتیدوگلیکان کاذب) قرار گرفته است .

۳-۹ دیواره سلولی گرم مثبت ها :

دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت بسیار ضخیم بوده که عمدتاً از پپتیدوگلیکان تشکیل شده است . پپتیدوگلیکان در باکتری های گرم مثبت دارای پل های عرضی است و دارای مقادیر زیادی تیکوئیک اسید است . که پلیمرهایی از گلیسرول یا ربیتول هستند که با گروه های فسفات به هم متصل شده اند .

تیکوئیک اسید با پیوندهای کووالان به پپتیدوگلیکان و یا لیپیدهای غشای پلاسمایی متصل می شود . تیکوئیک اسیدها در ساختار باکتریهای گرم منفی وجود ندارند . تیکوئیک اسید از ساختارهای مهم ویرولانسی است . اگر فسفات به عنوان ترکیب محدود شونده در محیط رشد باشد تیکوئیک اسید دیواره به وسیله سایر پلی مرهای شارژ منفی جایگزین شده و در نتیجه تبدیل به تیکورونیک اسید می گردد که فاقد گروه های فسفاتی است و ترکیبی از D گلوکورونیک اسید یا D مانوزورونیک اسید است





نقش های تیکوئیک اسید : (Thycoic acid)

۱- ویرولانسی (Virulance)

۲- آنتی ژن (Antigene)

۳- پذیرنده فاژ (Phage acceptor)

۴- اتصال به سطوح سلول های میزبان

۴- ایجاد محیط شارژ منفی در پوشش سلولی برای یون های مثل Mg^{2+}

۳-۱۰ لیپوتیکوئیک اسید :

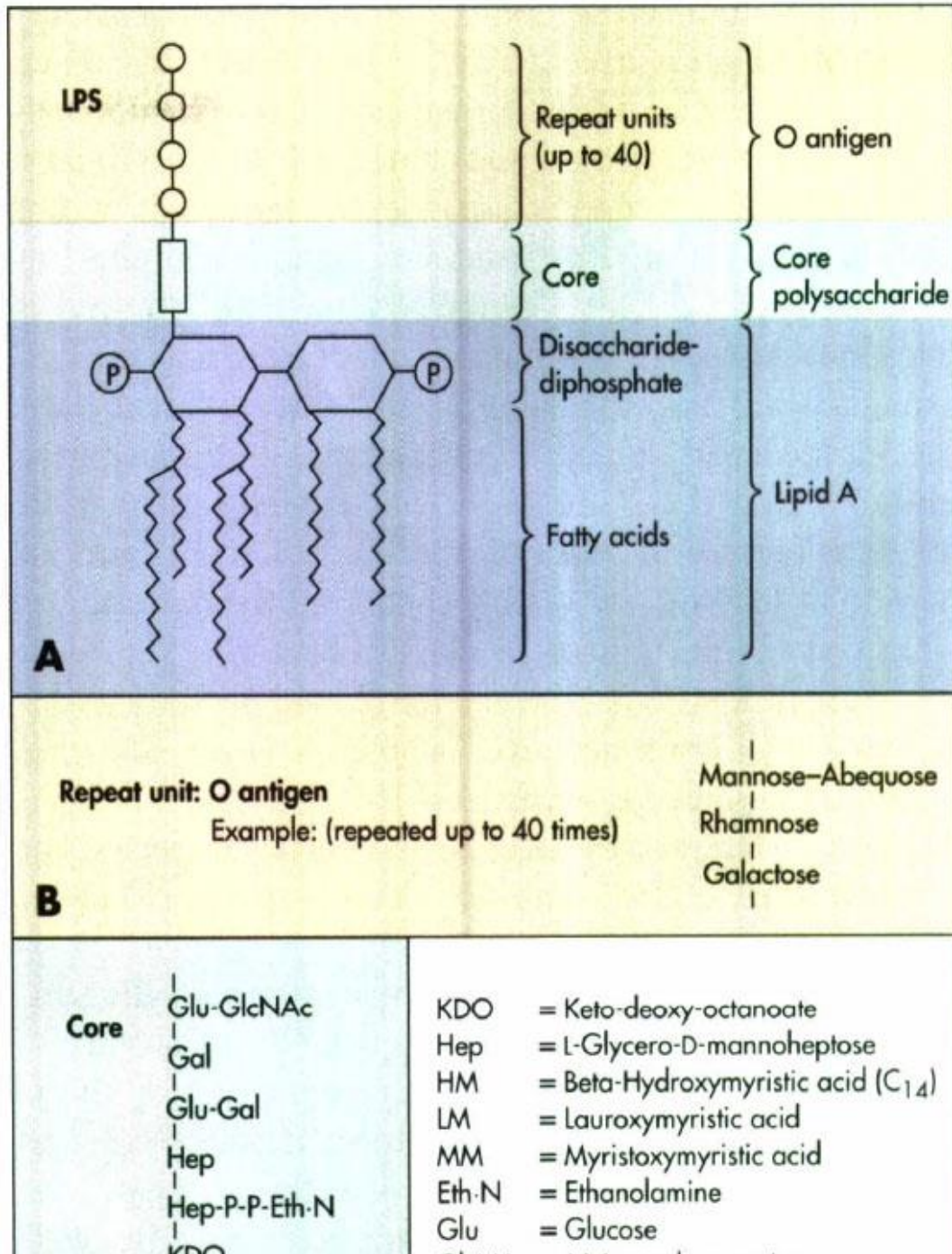
لیپوتیکوئیک اسید به طور کوالانت به گلیکو لیپید غشایی متصل است و در مزوزوم ها متراکم می شود و علاوه بر نقش آنتی ژنی عامل اتصال باکتری بر باکتری های دیگر و سلول های پستانداران است . لیپوتیکوئیک اسید غشایی در همه ی گرم مثبت ها وجود دارد اما تیکوئیک اسید دیواره در بعضی از گرم مثبت ها دیده شده است .

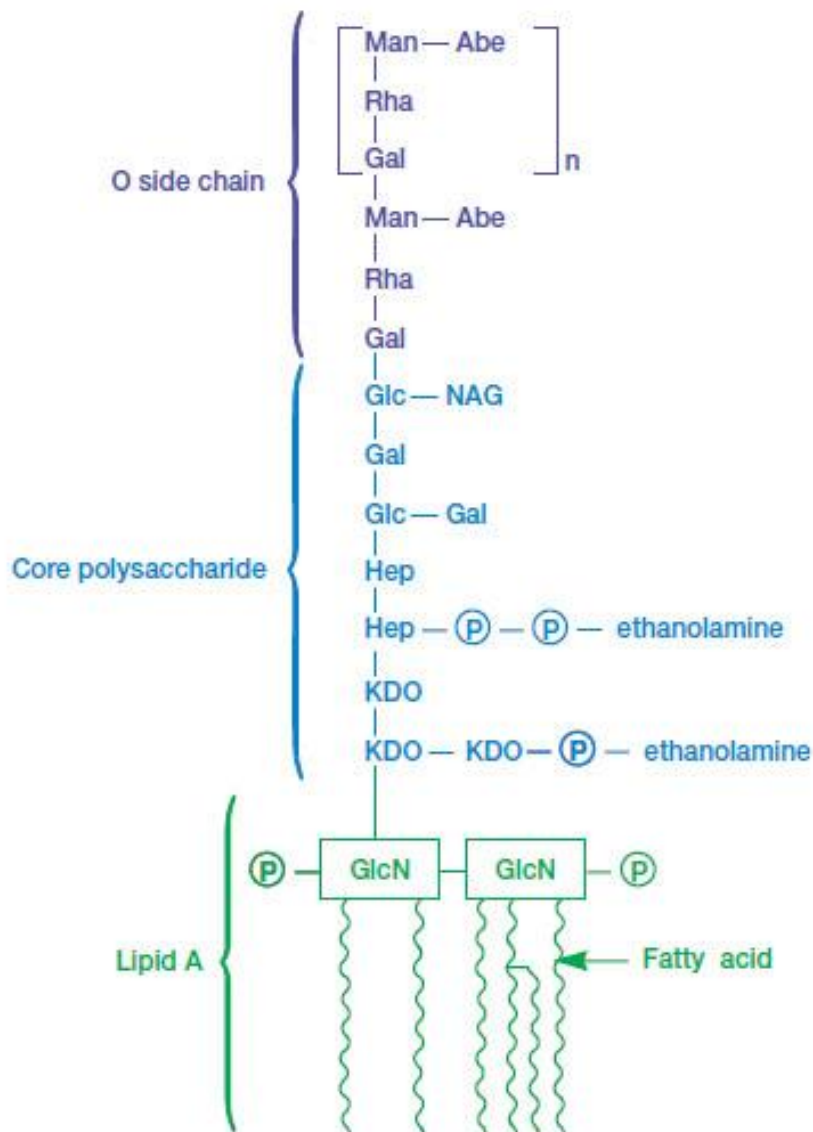
۳-۱۱ دیواره سلولی گرم منفی ها :

این دیواره در گرم منفی ها پیچیده تر از گرم مثبت هاست . پپتیدوگلیکان گرم منفی ها بسیار نازک تر از گرم مثبت هاست .

ترکیبات دیواره سلولی گرم منفی ها :

- ۱- پپتیدوگلیکان : ← در بیشتر گونه ها وجود دارد .
- ۲- غشاء خارجی (فسفو لیپید) : ← تمام گونه ها : درست بالای پپتیدوگلیکان قرار گرفته است .
- ۳- لیپو پروتئین ← بیشتر آنتروباکتر یاسه ها ، سود و موناک آئروژینوزا
- ۴- LPS ← تمام گونه ها





۱- پپتیدوگلیکان : ۱۰٪-۵ وزن دیواره سلولی را تشکیل می دهد و درست بالای غشاء سیتوپلاسمی وجود دارد . فضای پری پلاسمی : فضایی که بین بخش خارجی غشاء سیتوپلاسمی و بخش داخلی غشا خارجی در باکتری های گرم منفی وجود دارد و محل آنزیم های هیدرولیتیک است که شامل فسفاتازها ، پروتئازها ، لیپازها ، نوکلئازها و آنزیم های تجزیه کننده کربوهیدرات ها است .

همچنین محل فاکتورهای ویرولانسی لیتیک مثل کلاژ ناز ، هیالورونیداز، پروتئاز و بتالاکتاماز است این فضا همچنین شامل اجزاء سیستم های انتقال قندو پروتئین های اتصالی است که جذب متابولیت ها را تسهیل می کند .

۲-غشاء خارجی : ۲ لایه فسفو لیپیدی که بیشتر ساختار فسفو لیپیدی آن را فسفا تیدیل اتانول آمین تشکیل داده است . میزان پروتئین در غشاء خارجی بیشتر از غشاء سیتوپلاسمی است . این غشا حاوی پروتئین های متنوعی است که القایی بوده و در پاسخ به یکسری از فاکتورها مانند فقر آهن یا کمبود فسفات بیان می شوند . مثالی از این پروتئین ها ، پورین ها هستند که در غشا سوراخ ایجاد می کنند که به مولکول های هیدرو فیلک به طور غیر اختصاصی با وزن مولکولی کمتر از ۷۰۰ دالتون اجازه عبور می دهد . این غشاء به عنوان سدی در برابر آنتی بیوتیکهای بزرگ و هیدروفوبیک و پروتئین های مهم همچون لیزوزیم بوده و دارای پروتئین های ساختاری و مولکول های رسپتور برای باکتريو فاژ ها می باشد .

نکته مهم: داوطلبین محترم توجه فرمایید که با تهیه این جزوات دیگر نیاز به خرید هیچ گونه کتاب مرجع دیگری نخواهید داشت. برای اطلاع از نحوه دریافت جزوات کامل با شماره های زیر تماس حاصل فرمایید.

۰۹۳۷۲۲۲۳۷۵۶-۰۶۶۹۰۲۰۳۸-۰۶۶۹۰۲۰۶۱/۰۲۱

(رشت) ۰۱۳/۳۳۳۳۸۰۰۲

(لاهیجان) ۰۱۳/۴۲۳۴۲۵۴۳