Functional and molecular responses of bacteria against heat stress: a review

Faezi Ghasemi Mohammad

Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

Abstract

Bacteria's environment is constantly changing and they have to adapt to new conditions. One of these stresses is the ambient temperature. Different functional and molecular mechanisms exist in bacteria that respond to heat stress. This review aims to investigate the mechanism of functional and molecular responses of bacteria against heat stress. Various sensors have been identified in bacteria to respond to thermal stress. These sensors include sigma factors, transcription inhibitors, RNA thermosensors, DNA thermosensors, and molecular chaperones. The regulation of heat response genes can be positive or negative.In the positive regulation, alternative sigma factors, a series of selected promoters are used and copied. However, in the negative form, the adjustment is in the form of cascade processes. Most of the information obtained in the field of positive regulation has been found in *E. coli*. The most important regulatory factor is sigma factor 32 (σ32). This is followed by sigma factor E (sigma 24), which responds to induction heat and extra-cytoplasmic stresses such as protein aggregation. They play a role in the negative regulation of protein inhibitors such as HrcA, HspR, CtsR, and RheA. In addition, DNA, RNA, and different protein molecules are known as thermometers in response to temperature, which are discussed in this review.

Keywords: Heat stress, positive regulators, negative regulators, sigma factor, molecular chaperone, sensor.

Corresponding author:
Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran
Email: mfaezi@iau.ac.ir , faezi_m@yahoo.com

پاسخ‌های عملکردی و مولکولی باکتری‌ها در برابر تنش‌حرارتی: مطالعهٔ مروری

محمد فائزی قاسمی

گروه میکروبیولوژی دانشکدهٔ علوم‌پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

چکیده

محیط باکتری‌ها به‌طور مداوم درحال تغییر است و آن‌ها می‌بایست دائماً با شرایط جدید سازگار شوند. یکی از تنش‌ها دمای محیط است. سازوکارهای عملکردی و مولکولیِ مختلفی در پاسخ به تنش‌های حرارتی در باکتری‌ها وجود دارد. هدف از این مطالعهٔ مروری، بررسی مکانیسم پاسخ‌های عملکردی و مولکولی باکتری‌ها در برابر تنش حرارتی است. حسگرهای مختلفی در باکتری‌ها به‌منظور پاسخ در برابر تنش‌های حرارتی شناسایی‌شده است. این حسگرها عبارتند از: فاکتورهای سیگما، مهارکننده‌های نسخه‌برداری، حسگرهای حرارتی RNA، حسگرهای حرارتی DNA و چاپرون‌های مولکولی. تنظیم ژن‌های پاسخ به حرارت می‌تواند به شکل مثبت یا منفی باشد. در تنظیم مثبت از عوامل فاکتورهای سیگمای جایگزین استفاده و نسخه‌برداری از یک سری پروموترهای انتخاب‌شده انجام می‌شود. امّا در شکل منفی، تنظیم به شکل آبشاری از فرآیندهای نسخه‌برداری انجام می‌شود. بیشترین اطلاعات به‌دست آمده در زمینهٔ تنظیم مثبت در باکتری *اشرشیاکُلای* انجام پذیرفته و مهم‌ترین فاکتور تنظیم‌کننده، فاکتور سیگما ۳۲ (σ^{32}) است؛ پس از این فاکتور، فاکتور سیگما E (سیگما ۲۴) است که در برابر حرارت القا و نسبت به تنش‌های خارج سیتوپلاسمی، مانند تجمع پروتئین‌ها واکنش نشان می‌دهد. در تنظیم منفی مهارکننده‌های پروتئینی، مانند: HrcA، HspR، CtsR و RheA داری نقش می‌باشند. علاوه‌بر آن مولکول‌های DNA، RNA و پروتئین‌های مختلف به‌عنوان دماسنج در پاسخ به درجهٔ حرارت شناخته‌شده‌اند که در این بررسیِ مروری به آن‌ها پرداخته می‌گردد.

واژگان کلیدی: تنش حرارتی، تنظیم‌کننده‌های مثبت، تنظیم‌کننده‌های منفی، فاکتور سیگما، چاپرون مولکولی، حسگر.

۱- مقدمه

۱-۱- تنش در باکتری‌ها

تنش، واژه‌ای است که اولین‌بار توسط دانشمندان علوم زیست‌شناسی در مورد موجودات زنده به‌کار برده شد و تعریف آن به‌عنوان هر عاملی درنظر گرفته می‌شود که امکان بالقوّهٔ وارد آوردن صدمه به موجودات زنده را دارد، یا تنش نتیجهٔ روند غیرعادی فرآیندهای فیزیولوژیکی است که در نتیجهٔ تأثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی یا محیطی ایجاد می‌شود (۱). محیط اطراف باکتری‌ها دائماً در حال تغییر است، بنابراین حفظ هموستاز داخلِ سلولی ضمن سازگاری با محیط اطراف برای هر سلول باکتریِ زنده‌ای ضروری است (۲).

باکتری‌ها با تغییرات در عوامل مختلف محیطی از جمله دما، اکسیژن، میزان شوری و در دسترس بودن آب مواجه هستند. بسیاری از آن‌ها با سازگاری‌های بیوشیمیایی تحمل بالایی نسبت به تنش‌های شدید نشان داده و به زندگی در شرایط دشوار ادامه می‌دهند (۳).

باکتری‌ها برای غلبه بر این شرایط نامطلوب و متغیر باید تغییرات را درک کرده و پاسخ‌های مناسبی را در بیان‌ژن و فعالیت پروتئین‌هایشان ایجاد کنند. پاسخ تنش در باکتری‌ها شامل یک شبکهٔ پیچیده از عناصر است که بر محرّک خارجی اثر متقابل می‌گذارد. یکی از کلیدهای بقا، توانایی درک و تطابق به‌موقع با تغییرات محیط است و داشتن ابزار مناسب برای غلبه بر مجموعه‌ای از چالش‌های محیطی که باکتری‌ها را مقاوم می‌سازد تا با محیط سازگار شوند و همچنین پاسخِ تنش، باکتری‌ها را قادر می‌سازد تا در شرایط نامناسب و نوسانات محیطی زنده بمانند (۱، ۴). یک سلول باکتریایی می‌تواند به‌طور هم‌زمان در برابر تنش‌های مختلف واکنش نشان دهد و سامانه‌های مختلف واکنش تنش با مجموعه‌ای از شبکه‌های تنظیمی انجام می‌شود (۵).

علاوه‌بر آن، سامانه‌های تنظیمی وجود دارد که به تغییرات دما، مواد مغذی، نمک‌ها، pH و اکسیداسیون پاسخ

نویسنده مسئول:
گروه میکروبیولوژی دانشکدهٔ علوم‌پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
پست الکترونیکی:
mfaezi@iau.ac.ir, faezi_m@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۷

می‌دهند. سطوح پاسخ براساس میزان تغییری است که در محیط رخ می‌دهد. دستگاه‌هایی که پاسخ به تغییر محیط را فعال می‌کنند عناصر کنترل‌کنندهٔ زیادی دارند. این عناصر می‌توانند یک ژن یا گروه بزرگی از ژن‌ها باشند. وقتی عناصر کنترل‌کننده گروه بزرگی از ژن‌ها باشند آن را رگولون می‌نامند (۴).

باکتری‌ها می‌توانند هم‌زمان به تنش‌های مختلف واکنش نشان داده و سامانه‌های مختلف در این پاسخ با یکدیگر در تعامل هستند. یک شبکهٔ پیچیده از سامانه‌های تنظیمی منجر به یک پاسخ هماهنگ و مؤثر می‌گردد. این سامانه‌های تنظیمی بیان عوامل مختلف را تحت‌نظر دارند که ثبات تعادل سلولی را در شرایط مختلف حفظ می‌کنند (۶).

این سامانه‌ها می‌توانند شامل پاسخ‌های فوری، مانند چاپرون‌ها و همچنین پاسخ‌های کندتر مانند تنظیم رونویسی برای کنترل تولید پروتئین‌ها و سایر مواد باشند (۷، ۸).

هدف از این پژوهش مروری، بررسی پاسخ‌های عملکردی، فیزیولوژیک و مولکولی باکتری‌ها در برابر تنش‌های حرارتی براساس آخرین یافته‌های جدید است. درک دقیق پاسخ باکتری‌ها در برابر این تنش، بینش جدیدی را در مورد مکانیسم‌های مقاومت در باکتری‌ها ارائه می‌دهد. علاوه‌بر آن در انتها به بررسی چگونگیِ رشد و سازش‌پذیری باکتری‌ها در دمای بسیار پایین و بالا پرداخته‌شده است.

۱-۲- اثر دما بر باکتری‌ها

دمای محیط به‌طور مؤثر روی باکتری‌ها تأثیر می‌گذارد. باکتری‌ها نسبت به تغییرات درجهٔ حرارت حساس هستند، زیرا معمولاً تک‌سلولی بوده و دمای آن‌ها با تغییر شرایط محیط سریع تغییر می‌نماید. آنزیم‌ها در باکتری‌ها نسبت به تغییر درجهٔ حرارت بیشتر حساس می‌باشند، زیرا با افزایش درجهٔ حرارت سرعت واکنش‌های متابولیسمی که آنزیم‌ها نیز در آن شرکت دارند افزایش پیدا کرده و به‌این‌ترتیب رشد باکتری‌ها بیشتر می‌گردد، اما افزایشِ ادامه‌دار درجهٔ حرارت موجب افزایش رشد نمی‌شود و در زمان معینی به‌علّت اثر سوء روی سامانه‌های آنزیمی، رشد کاهش پیدا می‌کند (۵). درجهٔ حرارت‌های بسیار بالا کُشنده می‌باشند، زیرا با تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌های حمل‌ونقل‌کننده موجب آسیب به باکتری می‌شوند. غشای سیتوپلاسمی نیز در درجهٔ حرارت بالا آسیب‌دیده و تخریب می‌شود. برای هر میکروارگانیسم شامل باکتری‌ها حداقلِ دمایی وجود دارد که پایین‌تر از آن دما رشد باکتری اتفاق نمی‌افتد و در مقابل درجهٔ حرارتی وجود دارد که در آن رشد به‌سرعت اتفاق می‌افتد. همچنین درجهٔ حرارت بیشینه‌ای وجود دارد که بالاتر از آن درجهٔ دما رشدی اتفاق نمی‌افتد. این سه درجهٔ حرارت در اصطلاح درجه حرارت‌های اصلی[1] نامیده می‌شوند و این درجه حرارت‌ها برای باکتری‌های مختلف، متفاوت است. به‌عنوان مثال برخی از باکتری‌ها رشد بهینه‌ای در دمای صفر درجهٔ سلسیوس داشته و برای برخی دیگر در بالای ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس است. دامنهٔ حرارتی که باکتری‌ها می‌توانند رشد کنند وسیع‌تر از این نیز می‌باشد (بین ۱۵- تا ۱۲۲ درجهٔ سلسیوس). البته هیچ اُرگانیزمی نمی‌تواند در این محدوده از درجه حرارت رشد نماید. به طور معمول دامنهٔ رشد کمتر از ۴۰ درجهٔ سلسیوس است. بیشینهٔ دمایی که یک باکتری می‌تواند در آن رشد نماید، دمایی است که بالای آن دما تقلیب (وارونگی) یک یا برخی از اجزای سلول، مانند آنزیم‌های کلیدی اتفاق می‌افتد. فاکتورهایی که کنترل‌کنندهٔ حداقل دمای رشد باکتری‌ها هستند نیز خیلی مشخص نیستند. در حداقل دمای رشد باکتری‌ها غشای سیتوپلاسمی می‌بایست ساختار سیّالیت خود را جهت نقل‌وانتقال مواد حفظ نماید (۹).

۱-۳- پاسخ در برابر تنش حرارتی (دمای بالا)

پاسخ در برابر تنش حرارتی در حقیقت یک مکانیسم حفاظتی است که در برابر تغییر شرایط رشد اتفاق افتاده و نتیجهٔ آن ساخته‌شدن انواع مختلفی از پروتئین‌های شوک حرارتی است. در باکتری‌ها مولکول‌های حسگر زیستی مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک (RNA و DNA) تغییرات حرارتی در محیط اطراف را درک نموده و پاسخ در برابر تنش حرارتی در همهٔ باکتری‌هایی که مطالعه‌شده است دیده می‌شود (۱۰). در باکتری‌ها تعدادی از چاپرون‌های مولکولی وجود دارند که این مولکول‌ها تسریع‌کنندهٔ درست تاخوردنِ درشت‌مولکول‌های داخل سلول هستند. پروتئین‌ها برای انجام وظایف زیستیِ خود در فرایندی به‌نام تاشدن، شکل صحیحِ نقشِ عملکردی خود را می‌یابند. چاپرون‌ها در تا خوردن مجدد و صحیح پروتئین‌های تقلیب‌شده، در تجمع صحیح مجموعهٔ پروتئین‌ها و ممانعت از تجمع غلط آن‌ها نقش دارند. در تنش حرارت‌های بالا نیز پروتئین‌های شوک حرارتی[2] ساخته می‌شوند که جزو همین چاپرون‌های مولکولی می‌باشند. علاوه‌بر نقش حفاظتیِ این پروتئین‌ها در برابر تغییرات محیطی و حفظ شرایط پایدار

[1] Cardinal Tempratures

[2] Heat-Shock Proteins

داخل سلول[1]، بعضی از پروتئین‌های شوک حرارتی عوامل بیماری‌زای مهمی هستند و برخی هم می‌توانند به‌طور غیرمستقیم در بیماری‌زایی نقش داشته باشند (۱۱). اگرچه پاسخ‌های شوک حرارتی در باکتری‌ها و سلول‌های یوکاریوتیک حفظ‌شده است، اما مکانیسم‌های پایه‌ایِ مولکولی که تنظیم پاسخ‌های شوک حرارتی را انجام می‌دهند، در میان گونه‌های مختلفِ باکتری‌ها متفاوت‌اند. به‌این‌ترتیب که در باکتری‌ها سازوکارهای تنظیمیِ مختلفی تکامل‌یافته است که مکانیسم‌های نسخه‌برداری و پس‌از آن را به‌جهت ساخته‌شدن پروتئین‌های شوک حرارتی در زمان‌های لازم تنظیم می‌کند. برخی از پروتئین‌های شوک حرارتی در طول رشد طبیعی باکتری‌ها تحت همهٔ شرایط متابولیسمی وجود دارند. پروتئین‌های GroEL و DnaK نمایندهٔ دو پروتئینِ اصلیِ خانوادهٔ چاپرون‌ها هستند که نقش بسیار اصلی در زمینهٔ تاخوردنِ صحیح پروتئین‌ها داشته و به‌خصوص در شرایط تنشی، بسیار بیشتر دارای اهمیت می‌باشند. این پروتئین‌ها به سطوح هیدروفوب و پروتئین‌های تانخورده همراه با پروتئین‌های همراه (GroES , DnaJ-GrpE) و هیدرولیز ATP متصل می‌شوند. مونومرهای پروتئین GroEL معمولاً به شکل استوانه‌ای دو حلقهٔ هفت زیرواحدی تولید و کل پروتئینی که باید درست تا بخورد را بدون اینکه با سایر پروتئین‌ها واکنش دهد احاطه می‌کند. چاپرون DnaK تک زیرواحدی است و عملکرد خودش را با اتصال ترادف‌های کوچک هیدروفوبیک آمینواسیدی انجام می‌دهد. گروه دیگر پروتئین‌های شوک حرارتی که توسط باکتری‌ها در شرایط تنشِ حرارتی بیان می‌شوند، پروتئازها هستند و مسئولیت اصلیِ آن‌ها حذف پروتئین‌های تخریب‌شده در طول تنش است.

برخی از این پروتئین‌ها سیستم‌های چندقسمتی هستند که در آن یک زیرواحد تسریع‌کننده می‌باشد، به‌عنوان مثال پروتئین‌های HslV و ClpP همراه با زیرواحدهای تشخیص‌دهندهٔ سوبسترا، مانند ClpA و ClpX برای ClpP و HslU برای HslV که مولکول‌های همراه با چاپرون‌ها هستند و می‌توانند پلی‌پپتیدها را با هیدرولیز ATP تجزیه نمایند. این پروتئازها به‌شکل مجموعهٔ حلقه‌ای سازمان‌دهی می‌شوند. سایر اعضای این گروه از پروتئین‌های شوک حرارتی به یک پلی‌پپتید چاپرونی با فعالیت پروتئازی‌مانند Lon، FtsH و یک پروتئاز حاوی سرین DegP متصل می‌شوند. پروتئین‌های کوچک شوک حرارتی - گروهی از پروتئین‌های غیریکنواخت هستند که بیان آن‌ها در زمان تنش‌ها انجام می‌شود. وظیفهٔ اصلی آن‌ها اتصال و حفاظت از پروتئین‌های تا نخورده است به‌صورتی که آن‌ها را به‌شکلی حفظ نمایند تا تخریب نشوند. برخی از پروتئین‌های شوک حرارتی فاکتورهای بیماری‌زای مهمی هستند و برخی به طورغیرمستقیم در بیماری‌زایی دخیلند. برخی از این پروتئین‌های شوک حرارتی اثرهای معکوسی دارند. به‌عنوان مثال GroEL1 در باکتری *مایکوباکتریوم اسمگماتیس*[2] یک فرم مشابه با GroEL است که ارتباطی با شوک حرارتی نداشته و مسئول ساختن اسید مایکولیک و تشکیل بیوفیلم است. به‌علاوه پروتئین GroES در باکتری *هلیکوباکتر پیلوری*[3] نه‌تنها به‌عنوان چاپرون همراه است، بلکه در نگهداری و جابه‌جایی یون‌های نیکل به‌عنوان یک فاکتور بیماری‌زایی در این باکتری دارای نقش است. از طرف دیگر شواهدی وجود دارند که نشان می‌دهند چاپرون‌های مولکولی در بعضی از موارد به‌عنوان عوامل مستقیمِ بیماری‌زایی هستند. حتی امروزه این بحث وجود دارد که در بسیاری از نژادهای باکتری‌ها از چاپرون‌های GroEL و DnaK به‌عنوان عوامل اتصال به سطح سلول‌های میزبان استفاده می‌نمایند. چاپرون‌ها نقش نقل‌وانتقال پیام‌های بین سلول‌ها را داشته و در بسیاری از موارد القاکنندهٔ ساخته شدن سایتوکاین بوده و مرگ برنامه‌ریزی‌شدهٔ سلولی[4] را القا می‌نمایند (۱۲ - ۱۵).

۱-۴- پاسخ در برابر تنش حرارتی (دمای پایین)

ازآنجاکه بیشتر سطح کرهٔ زمین دمای پایینی دارد و میانگین دمای اقیانوس‌ها که بیش از نیمی از سطح زمین را تشکیل می‌دهند ۵ درجهٔ سلسیوس است و اعماق اقیانوس‌ها دارای دمای ثابت بین ۱ تا ۳ درجهٔ سلسیوس هستند. مناطق وسیع قطب شمال و جنوب به‌طور دائم درحال یخ زدن هستند یا در تابستان فقط چند هفته بیشتر از حالت منجمد خارج نمی‌شوند. این محیط‌های سرد دارای باکتری‌های متنوعی هستند، مانند یخچال‌ها جایی‌که شبکه‌های کانال‌های آب مایع که از داخل و زیرِ یخچال عبور می‌کنند مملو از باکتری‌ها است. حتی در قسمت‌های منجمد جامد مقداری از آب مایع باقی می‌ماند که املاح در آن متمرکزشده و باکتری‌ها می‌توانند به‌طور آهسته متابولیسم کرده و رشد کنند. اثر درجهٔ حرارت‌های پایین روی باکتری‌ها بیشتر ممانعت‌کنندگی است تا کُشندگی. شوک سرمایی زمانی رخ می‌دهد که باکتری‌ها با کاهش قابل‌توجه سریع دما مواجه شوند. برای ایجاد شوک سرمایی، کاهش دما به‌عنوان مثال از ۳۷ به ۲۰ درجهٔ سلسیوس و باید در مدت‌زمان کوتاه یعنی در کمتر از ۲۴ ساعت اتفاق افتد (۱۶).

[1] Homeostasis
[2] *Mycobacterium Smegmatis*
[3] *Helicobacter Pylori*
[4] Apoptosis

کاهش ناگهانی در حرارت می‌تواند منجر به ایجاد یک الگوی تغییریافته در بیان‌ژن در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها شود. به‌عنوان مثال پاسخ شوک سرمایی در *اشرشیاکُلای*[1] در نتیجه کاهش حرارت از ۳۷ به ۱۰ درجهٔ سلسیوس در ابتدا منجر به متوقف شدن رشد شده و یا رشد با سرعت کمتری انجام می‌شود و پس از چند ساعت تأخیر از نو آغاز می‌گردد. همچنین آثار شوک سرمایی در باکتری‌ها عبارتند از: کاهش سیّالیت غشای سلولی، کاهش فعالیت آنزیم‌ها، کاهش کارایی رونویسی و ترجمه، کاهش کارایی تاخوردگی پروتئین و کاهش عملکرد ریبوزوم‌ها می‌باشد (۱۷).

باکتری‌ها از غشای سیتوپلاسمی، DNA، RNA و ریبوزوم‌ها به‌عنوان حسگرهای سرما در سلول استفاده کرده و آن‌ها را مسئول نظارت بر دمای سلول می‌نمایند. هنگامی‌که این حسگرها سیگنال وقوع شوک سرما را ارسال می‌کنند، باکتری‌ها سنتز بیشتر پروتئین‌ها را متوقف کرده تا تمرکز خود را به‌سمت تولید پروتئین شوک سرمایی[2] هدایت نمایند. حجم پروتئین‌های شوک سرماییِ تولیدشده بستگی به‌شدت کاهش دما دارد. عملکرد این پروتئین‌های شوک سرمایی به این صورت است که به سلول در سازگاری با تغییرات ناگهانیِ دما کمک کند و به آن اجازه می‌دهد تا حدّ ممکن نزدیک در سطحِ طبیعیِ عملکردِ خود باقی بماند (۱۸).

مسیری که تصور می‌شود پروتئین‌های شوک سرمایی عملکرد خود را انجام می‌دهند، فعالیت به‌عنوان چاپرون‌های اسید نوکلئیک است. این پروتئین‌های شوک سرمایی باعث ایجاد ساختارهای ثانویه در mRNA در طول شوک سرمایی می‌شوند و باکتری‌ها با تنها RNA تک‌رشته‌ای باقی می‌مانند (۱۹).

همچنین پروتئین شوک سرمایی بر تشکیل ساختار سنجاقی در RNA تأثیر می‌گذارند و مانع شکل‌گیری آن‌ها می‌شوند. عملکرد این ساختارهای سنجاقی، آهسته کردن یا کاهش فرایند رونویسی RNA است. بنابراین با حذف آن‌ها این امر به افزایشِ کاراییِ رونویسی و ترجمه نیز کمک می‌کند. هنگامی‌که شوک اولیهٔ کاهش دما برطرف شد، تولید پروتئین‌های شوک سرمایی به آرامی کاهش می‌یابد و در عوض پروتئین‌های دیگر در جای خود سنتز می‌شوند، زیرا سلول در این دمای پایین‌تر همچنان به رشد خود ادامه می‌دهد. بااین‌حال میزان رشد این سلول‌های باکتریایی در دمای سردتر اغلب کمتر از میزان رشد آن‌ها در دمای گرم‌تر است (۲۰، ۲۱).

شوک سرمایی موجب القا یا افزایش ساخته‌شدن پروتئین‌های شوک سرمایی می‌شود. همچنین شوک سرمایی، به وجود آمدن یک پاسخ سازگارکننده را منجر می‌شود. پروتئین‌های شوک سرمایی، پروتئین‌های کوچک (دارای ۶۵ تا ۷۰ اسیدآمینه) هستند که در باکتری‌های سرمادوست، مزوفیل، گرمادوست و حتی گرمادوست شدید یافت می‌شوند (۲۲). پروتئین CspA اولین‌بار در *اشرشیاکُلای* شناسایی شد. بعدها مشخص شد که خانوادهٔ CspA در *اشرشیاکُلای* حداقل دارای ۹ همولوگ از CspA تا CspI با ۴۶ تا ۹۱ درصد شباهت آمینواسیدی است. همچنین پروتئین‌های Csp بسیار حفاظت‌شده هستند و تحمل‌پذیریِ حرارتیِ آن‌ها متفاوت است. پروتئین CspA در باکتری سرمادوست *لیستریا مونوسایتوژنز*[3] نقطهٔ ذوب ۴۰ درجهٔ سلسیوس دارد. درحالی‌که پروتئین‌های شوک سرمایی در باکتریِ گرمادوستِ *ترموس آکواتیکوس*[4] نقطهٔ ذوبِ ۷۶ درجهٔ سلسیوس دارد که این نشان می‌دهد پروتئین‌های شوک سرمایی انعطاف‌پذیری بیشتری دارند تا از DNA سلولِ باکتری حفاظت کنند (۲۳). در ۳۷ درجهٔ سلسیوس CspA، mRNA بسیار ناپایدار بوده و نیمه‌عمر آن ۱۲ ثانیه است؛ اما بعد از شوک سرمایی، پایداریِ آن افزایش‌یافته و نیمه‌عمر آن به ۲۰ دقیقه می‌رسد. پایداری موقّت mRNA در مقابل درجهٔ حرارت‌های پایین یک فاکتور مهم در القای پروتئین CspA در طول شوک سرمایی است (۲۶-۲۴).

۱-۵- پاسخ‌های عملکردی و فیزیولوژیک باکتری‌ها در برابر تنش‌های حرارتی

مطالعات مختلفی در زمینهٔ پاسخ‌های عملکردی و فیزیولوژیک باکتری‌ها در برابر تنش‌های حرارتی انجام شده است. در مطالعهٔ فائزی و همکاران در سال ۲۰۱۶، اثرهای درجه حرارت‌های ۳۲/۵، ۴۲/۵، ۵۲/۵، ۶۲/۵، ۷۲/۵، ۸۲/۵ و ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس بر روی الگوی رشد، ویژگی‌های بیوشیمیایی و تشکیل بیوفیلم توسط *مایکوباکتریوم مارینوم*[5] CCUG 20998 انجام پذیرفت. براساس نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق دمای ۶۲/۵ قادر است رشد این باکتری را به‌طور کامل مهار نماید و حداکثر تحمل رشد برای این باکتری ۵۲/۵ درجهٔ سلسیوس بود و رشد این باکتری بین ۲۵ تا ۳۲ درجهٔ سلسیوس به‌خوبی انجام می‌شود. امّا در تنش حرارتی ۵۲/۵ درجهٔ سلسیوس از دست دادن رنگ‌زایی در کلنی‌ها، حساسیت به ایزو نیازید[6]، عدم

[1] *Escherichia Coli*
[2] Cold Shock Proteins
[3] *Listeria Monocytogenes*
[4] *Thermus Aquaticus*
[5] *Mycobacterium Marinum*
[6] Isoniazid

هیدرولیز تویین و اوره و همچنین عدم‌فعالیت فسفاتازی در این باکتری دیده شد (۲۷).

در مطالعهٔ فائزی و کاظمی در سال ۲۰۱۵، قدرت زنده ماندن و الگوی حساسیت به آنتی‌بیوتیک در باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* در دماهای ۳۰، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵ و ۶۰ درجهٔ سلسیوس مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که قرار گرفتن *لیستریا مونوسایتوژنز* در دمای زیرِ حد کُشنده ۴۵ درجهٔ سلسیوس موجب افزایش مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌گردد. درجه حرارت‌های بالاتر از ۴۵ درجهٔ سلسیوس به‌میزان زیادی تعداد سلول‌های واحدهای تشکیل‌دهندهٔ کلنی به ازای هر میلی‌لیتر (CFU/mL) را پایین آورد (۶).

حاجیان و همکاران در سال ۲۰۲۱، اثر شرایط تنش را روی چگونگی رشد و پروتئوم باکتری *رائولتلا پلانتیکولا*[1] بررسی کردند. این باکتری در شرایط تنش درجه حرارت‌های ۴۵، ۵۵، ۶۵، ۷۵، ۸۵ و ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت. تغییر درجه حرارت از ۳۷ به ۴۵ درجهٔ سلسیوس موجب کاهش ۱/۳۹ برابری تعداد واحدهای تشکیل‌دهندهٔ کلنی به ازای هر میلی‌لیتر (CFU/ml) گردید و هیچ رشدی بالاتر از دمای ۸۵ درجهٔ سلسیوس مشاهده نشد (۲۸).

امام پور و فائزی در سال ۱۳۹۹، تغییرات بیان‌ژن *rpoH* در باکتری *اشرشیاکلای* PTCC 1399 متعاقب تنش حرارتی را به روش Real-time PCR بررسی کردند. نتایج به‌دست آمده نشان دادند که تحت تنش دما، باکتری *اشرشیاکلای* در دماهای ۳۷، ۴۵، ۵۵ و ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد رشد داشته و در دماهای ۶۵ و ۷۵ درجهٔ سانتی‌گراد رشد کاهش یافته و در دمای ۸۵ درجهٔ سانتی‌گراد رشد متوقف می گردد. آنالیز Real-time PCR در بیان‌ژن *rpo*H نشان داد که تحت شرایط تنش، میزان بیان‌ژن به مقدار ۲/۷ نسبت به شرایط کنترل افزایش یافت (۲۹).

فائزی و علی‌خانی (۲۰۱۶) تغییرات بیان‌ژن‌های مربوط به بیان‌ژن‌های فاکتورهای سیگما را در *مایکوباکتریوم مارینوم* CCUG 20998 بررسی کردند. در این مطالعه مشخص شده متعاقب افزایش درجه حرارت در هنگام فاز نماییِ رشد، برخی از فاکتورهای سیگما مانند σE و σK بیشتر بیان می‌شوند که منجر به افزایش تولید بیوفیلم در این باکتری می‌گردد (۳۰). حل‌شده‌های سازشی شامل گلیسین- بتائین به‌طور مؤثر توسط *اشرشیاکلای* از طریق یک سیستم انتقالی وابسته به اتصال به پروتئین جذب می‌گردند. جذب گلیسین- بتائین معمولاً در باکتری‌های گرم‌مثبت مانند *استافیلوکوکوس ارئوس*[2] و *باسیلوس سوبتلیس*[3] نیز مشاهده شده و این باکتری‌ها را در برابر استرس‌های گرمایی حفاظت می‌کند (۳۱).

شیرس و استین در سال ۲۰۰۴ پاسخ باکتری *مایکوباکتریوم اسمگماتیس* را در برابر تنش سرمایی مطالعه کردند. تغییر درجه حرارت از ۱۰ به ۳۷ درجهٔ سلسیوس اثر بیشتری را روی رشد، متابولیسم و محتویات پروتئین‌های سلولی داشت. کاهش ۲۷ درجه‌ایِ دما موجب شد که زمان فاز تأخیریِ رشد به ۲۱ تا ۲۴ ساعت برسد. همچنین پاسخ در برابر این شرایط سازش‌پذیر بود. به‌طوری که رشد مجدد پس‌از این زمان به‌میزان ۵۰ برابر کاهش پیدا کرد. ساخته شدن ۱۵ پروتئین در طول فاز تأخیری القا شد. دو الگوی ساخته شدن پروتئین‌ها به‌شکل موقت و ادامه‌دار در این باکتری انجام پذیرفت. این در نتیجهٔ تولید پروتئین‌های القاشده توسط درجه حرارت و تجمع آن‌ها در سلول است. یکی از این پروتئین‌ها CipMa است که یک پروتئین شبیه به هیستون‌هاست و دیگری Hlp که در طول رشد مخفی در شرایط بی‌هوازی نیز القا می‌شود. میزان سطح بیان mRNAهای این دو پروتئین به‌میزان ۵ تا ۷ برابر پس از گذشت ۹ تا ۱۲ ساعت افزایش پیدا کرد. اگرچه میزان زنده ماندن سلول باکتری تغییری نکرد (۳۲).

دی پیترو و همکاران در سال ۲۰۱۳ نقش پروتئین PY در شوک سرماییِ باکتری *اشرشیاکلای را* بررسی کردند. این پروتئین مسئول مهار ساخته شدن بسیاری از پروتئین‌ها در طول سازش‌پذیریِ سرمایی است. حذف ژن کُدکنندهٔ این پروتئین yfiA نشان داد که این پروتئین در سازش‌پذیری در شرایط سرما نقش داشته امّا مسئول خاموش کردنِ ساخته شدن تودهٔ پروتئین‌ها در شروع تنش در سلول نیست، امّا قادر است به‌طور جزیی از ترجمهٔ پروتئین‌ها ممانعت کند. نتایج کلی این تحقیق نشان داد که در طی شوک سرمایی، پروتئین PY موجب توقف عملکرد بعضی از mRNAهای پروتئین‌ها در طی مرحلهٔ ترجمه می‌شود (۳۳).

دی آنجلیس و همکاران در سال ۲۰۰۴، پاسخ به شوک حرارتی را باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[4] مطالعه کردند. هنگامی‌که سلول‌ها در فاز رشد ثابت در معرض تنش حرارتی قرار گرفتند، کاهش اعشاری در ارزش D (مدت‌زمانی که لازم است تعداد سلول‌ها به‌میزان یک واحد

[1] *Raoultella Planticola*

[2] *Staphylococcus Aureus*

[3] *Bacillus Subtilis*

[4] *Lactiplantibacillus Plantarum*

لگاریتمی کاهش پیدا کند) دیده می‌شود. امّا زمانی‌که سلول‌های نیمه‌فاز لگاریتمی استفاده شد، میزان ارزش D به‌مقدار زیادی کاهش پیدا کرد. به‌طوری‌که کاهش ۱۰ برابری در ارزش D اتفاق افتاد زمانی‌که درجه حرارت از ۹ به ۲۰ درجهٔ سلسیوس رسید. قسمتی از سلول‌های باکتری پس از قرار گرفتن در دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس مجدد توانستند قدرت زنده ماندن خود را پس از قرار گرفتن در شیر استریل پس از ۲۰ روز در ۷ درجهٔ سلسیوس به‌دست آورند. همچنین وقتی سلول‌های فاز رشد ثابت و نیمه‌فاز لگاریتمی در ۴۲ درجهٔ سلسیوس به‌مدت یک ساعت قرار گرفتند، مقاومت در برابر دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۹۰ ثانیه، مقاومت در pH=5 و حضور ۶ درصد نمک کلریدسدیم را پیدا کردند (۳۴).

رویز و همکاران در سال ۲۰۱۱ پاسخ *بیفیدیوباکتر*[1]*ها* را در برابر چالش‌های محیطی بررسی کردند. با توجه به اینکه *بیفیدیوباکتریوم*[2]، باکتری‌های مفیدی بوده و می‌بایست در برابر تنش‌های مختلف شامل حرارت، پایین بودن ضریب فعالیت آب، شوک اسمزی و پایین بودن ضریب فعالیت آب و اکسیژن مقاومت داشته باشند. همچنین پس از بلعیده شدن نیز می‌بایست در سیستم دستگاه گوارش به‌ویژه در رودهٔ بزرگ پایدار و فعال باشند. شرایط سخت در دستگاه گوارش شامل اسیدی بودن پایین در معده و حضور نمک‌های صفراوی در رودهٔ کوچک است. رودهٔ بزرگ نیز دارای جمعیت گسترده از باکتری‌ها است که تغییرات گسترده‌ای از لحاظ کربن در دسترس در آن دیده می‌شود. پاسخ به تنش حرارتی در گونه‌های مختلف *بیفیدوباکتر*ها مطالعه شده است (۳۵).

در پاسخ به این تنش چند نوع از پروتئین‌های چاپرونی ساخته می‌شوند. این مکانیسم در گونه‌های *بیفیدوباکتریوم* مانند *بیفیدوباکتریوم لانگوم*[3]، *بیفیدوباکتریوم آدولاسنتیس*[4] و *بیفیدوباکتریوم بروی*[5] حفظ شده است. پروتئین چاپرون DnaK میزان سطح نسخه‌برداری آن با افزایش دما افزایش پیدا می‌کند. بیشتر مطالعات در زمینهٔ پاسخ به تنش حرارتی و سازش‌پذیری در باکتری‌های *بیفیدیوباکتریوم لانگوم* NCC 2705 و *بیفیدیوباکتریوم بروی* UCC 2003 انجام شده است. تجزیه‌وتحلیل ترانسکریپتوم *بیفیدیوباکتریوم لانگوم* NCC 2705 که در معرض دمای ۵۰ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۳، ۷ و ۱۲ دقیقه قرار گرفت، نشان داد که تغییر در بیان ۴۶ درصد از ژن‌ها اتفاق می‌افتد. علاوه‌بر آن، نژاد NCC 2705 به شوک حرارتی با القای ژن *smpB* پاسخ می‌دهد. این ژن کد کنندهٔ tmRNA همراه با پروتئین کوچک B است. برای این نژاد، هم‌نژاد وحشی والدی و هم مشتق سازش‌پذیر در برابر حرارت مقایسه شد و مشتق به‌دست‌آمده NCC 2912 از *بیفیدیوباکتریوم لانگوم* NCC 2705 و آنالیز پروتئومی هر دو نژاد تفاوت‌های کمی در ۱۹ پروتئین نشان دادند. پروتئین‌های شوک حرارتی القاشدهٔ چاپرون‌ها و پروتئازها به‌خصوص DnaK، GrpE، ClpA/B، ClpC و پروتئین متصل‌شوندهٔ fk506 است. در مورد پاسخ‌های حرارتی *بیفیدوباکتریوم بروی* مشخص شده است که مولکول‌های چاپرونی نقش اصلی را ایفا می‌کنند (۳۶، ۳۷). در نژاد UCC 2003 بیان بیشتر دو گروه از چاپرون‌های مولکولی دیده می‌شود؛ گروه اول شامل پروتئین‌های ClpC، GroES، GroEL و ClpPs می‌باشند که مسئول پاسخ در برابر حرارت‌های متوسط می‌باشند؛ گروه دوم شامل پروتئین‌های DnaJ، GrpE، DnaK و ClpB می‌باشند که در نتیجهٔ افزایش درجه حرارت‌های خیلی زیاد افزایش پیدا می‌کنند. همچنین ژن *hsp*20 که کد کنندهٔ یک پروتئین شوک حرارتی کوچک است به‌میزان زیاد بیان می‌شود (۱۰، ۳۸ و ۳۹).

مقایسه در ترانسکریپتوم *سالمونلا انتریکا* سروواریته تایفی موریوم[6] در پاسخ نسبت به درجه حرارت در سلول‌های تثبیت‌شده و پلانکتونی توسط بریت نیل سن و همکاران در سال ۲۰۱۳ بررسی شد. آن‌ها این باکتری را در تنش ۴۵ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار دادند. در نتیجه بیان ۵۳۸ ژن بین این دو شرایط اتفاق افتاد. تنش حرارتی در سلول‌های ثبیت‌شده موجب بیان‌ژن‌های تولیدکنندهٔ فلاژله و ژن‌های بیماری‌زایی نسبت به سلول‌های تثبیت‌شدهٔ حرارت‌ندیده گردید. سلول‌های تثبیت‌شده در معرض تنش حرارتی قدرت تهاجم بیشتری در برابر سلول‌های HeLa نسبت به سلول‌های کنترل حرارت‌ندیده داشتند. تنش حرارتی موجب شد که باکتری‌های فرم پلانکتونی قدرت تهاجمیِ کمتری داشته باشند. میزان تهاجم در سلول‌های تثبیت‌شده نسبت به سلول‌های پلانکتونی حتی پس از برداشته شدن تنش نیز

[1] *Bifidobacteria*
[2] *Bifidobacterium*
[3] *Bifidobacterium Longum*
[4] *Bifidobacterium Adolescentis*
[5] *Bifidobacterium Breve*
[6] *Salmonella Enterica Serovar Typhimurium*

به‌مدت ۳۰ دقیقه حفظ گردید. در نتیجه می‌توان گفت سلول‌های تثبت‌شده نسبت به فرم‌های پلانکتونیِ متفاوت در برابر تنش‌های محیطی پاسخ می‌دهند (۴۰).

گوان و همکاران در سال ۲۰۱۵ نقش فیزیولوژیک پروتئین RpoS در *یرسینیا سودوتوبرکلوزیس*[1] در باقی ماندن تحت شرایط تنش، تشکیل فلاژله و تولید بیوفیلم بررسی کردند. آن‌ها متوجه شدند که پروتئین RpoS نقش مهمی در پاسخ به تنش‌های مختلف شامل شرایط اکسداتیو، اسیدی، شوک اسمزی و حرارتی در این باکتری دارد (۴۱).

جانستون و بران در سال ۲۰۰۲ اثرهای دماهای پایین مختلف را روی گونه‌های مختلف جنس *ویبریو*[2] مطالعه کردند. سلول‌های فاز رشد نمایی *ویبریو ولونیفیکوس*[3]، *ویبریو کلرا*[4] و *ویبریو پاراهمولیتیکوس*[5] و در فلاسک‌های حاوی آب دریا و نیز در حرارت‌های ۴ و ۲۰ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند (۴۲). سلول‌هایی که در ۲۰ درجهٔ سلسیوس قرار داشتند، توانستند پس از ۶۰ روز روی محیط آگاردار حاوی عصارهٔ قلب و محیط حاوی تیوسولفات حاوی نمک‌های صفراوی مجدداً رشد نمایند. همچنین در ۴ درجهٔ سلسیوس باکتری‌ها روی محیط‌کشت به‌شکل غیرقابل‌کشت در دو محیط درآمدند. سلول‌ها از نظر متابولیسمی فعال بودند و غشای سیتوپلاسمیِ آن‌ها تمامیّت خود را حفظ کرده، اما شکل سلول از فرم میله‌ای به فرم کروی تغییرشکل پیدا کرد. سلول‌های گونه‌های این باکتری به‌طور معمول چه به‌صورت قابل‌کشت و چه به‌صورت غیرقابل‌کشت در درجه حرارت ۲۰- درجهٔ سلسیوس غیرفعال نمی‌گردند. نتایج نشان دادند که *ویبریو پاراهمولیتیکوس* بالاترین مقاومت را در درجه حرارت‌های پایین از خود نشان داد. به‌علاوه درجه حرارت پاستوریزاسیون یعنی ۷۰ درجهٔ سلسیوس در ۲ دقیقه هر سه گونهٔ باکتری را غیرفعال می‌نماید. الگوی مقاومت حرارتی در سه گونهٔ این باکتری در حالت غیرقابل‌کشت مشابه بود، اما در برخی موارد نسبت به سلول‌های نرمال حساسیّت حرارتی بیشتر بود (۴۲).

۱-۶- تنظیم‌های مولکولی پاسخ در برابر تنش حرارتی در باکتری‌ها

بر اساس مطالعات انجام‌شده حسگرهای مختلفی در باکتری‌ها به‌منظور پاسخ در برابر تنش‌های حرارتی شناسایی شده است. این حسگرها عبارتند از:

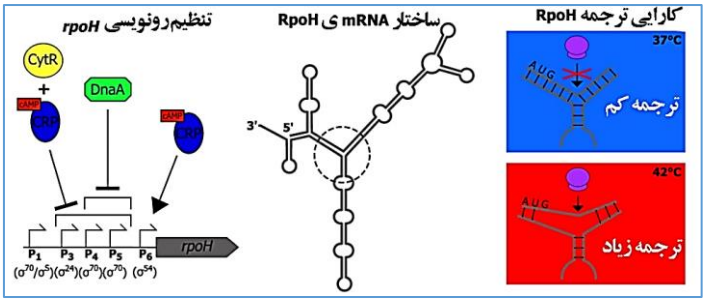
۱- فاکتورهای سیگما
۲- مهارکننده‌های نسخه‌برداری
۳- حسگرهای حرارتی RNA
۴- حسگرهای حرارتی DNA
۵- چاپرون‌های مولکولی.

تنظیم ژن‌های پاسخ به حرارت می‌تواند به‌شکل مثبت یا منفی باشد. در تنظیم مثبت از عوامل فاکتورهای سیگمای جایگزین استفاده می‌شود و در این شرایط نسخه‌برداری از یک سری پروموترهای انتخاب‌شده انجام می‌گردد. اما در شکل منفی تنظیم به‌صورت آبشاری از فرآیندهای نسخه‌برداری انجام می‌شود. تنظیم مثبت نسخه‌برداری ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ پاسخ به شوک حرارتی توسط فاکتورهای سیگما انجام می‌گردد. فاکتور سیگما زیرواحدی از آنزیم RNA پلی‌مراز است که در تشخیص پروموترها جهت نسخه‌برداری عمل می‌کند (۴۳). به‌طور کلی کنترل نسخه‌برداری به این شکل است که زیرواحد فاکتور سیگما کنترل‌کنندهٔ نسخه‌برداری از ژن‌های پاسخ‌دهنده به شوک حرارتی بسته به شرایط با فاکتور سیگمای ژن‌های خانه‌دار[6] رقابت کرده و سبب می‌شوند که آنزیم RNA پلی‌مراز ژن‌های مربوط به پاسخ شرایط تنش به حرارت را انتخاب نمایند. روند افزایش نسخه‌برداری ژن‌های پاسخ به شوک حرارتی وابسته به شوک حرارتی است و یک سیگما فاکتور معین در این زمینه دارای نقش است که در باکتری *اشرشیاکُلای* به‌عنوان مدل بررسی شده است (۹).

در *اشریشیاکُلای*، محصول ژن *htpR* پروتئین HtpR نامیده می‌شود که در کنترل شوک حرارتی دارای نقش است. این ژن کد کنندهٔ فاکتور σ^{32} است. محصول این ژن شباهت بسیار زیادی از نظر ترادف آمینواسیدی با فاکتور سیگمای طبیعی (σ^{70}) دارد. پلی‌پپتید فاکتور سیگما ۳۲ را از عصارهٔ خام سلولِ باکتری *اشرشیاکُلای* خالص و با ساختار هستهٔ آنزیم RNA پلی‌مراز در شرایط آزمایشگاهی ترکیب کردند و نتیجه گرفتند که آنزیم RNA پلی‌مراز فعالیت کاتالیزوری خود را تحت این شرایط حفظ کرد، اما توانایی شروع مجدد نسخه‌برداری در شرایط آزمایشگاهی را نداشت. این آزمایش نشان داد که پروتئین HtpR توانایی شناسایی پروموتورهای شوک حرارتی بوده و هیچ نیازی به فاکتور σ^{70} رشد طبیعی سلول ندارد. زمانی‌که مشخص شد پروتئین HtpR سیگما فاکتوری است که می‌تواند از

[1] *Yersinia Pseudotuberculosis*
[2] *Vibrio*
[3] *Vibrio Vulnificus*
[4] *Vibrio Cholerae* (*Asiatic Cholera*)
[5] *Vibrio Parahaemolyticus*
[6] Housekeeping Genes

شروع نسخه‌برداری از پروموتورهای حساس به شوک حرارتی را آغاز نماید، ژن آن به نام *Rpo*H تغییر نام پیدا کرد در مقایسه با ژن *Rpo*D که کد کنندهٔ فاکتور سیگما ۷۰ است، ژن *Rpo*H فاکتور سیگما ۳۲ را کد می‌کند. این فاکتور سیگما به نام سیگما فاکتور H نیز معروف است (۴۴). آن موردی که موجب اختصاصی بودن اتصال فاکتور سیگما ۳۲ برای نسخه‌برداری می‌شود شناسایی قسمتی از پروموتور با یک حوزهٔ متصل‌شونده به مولکول DNA است. بسیاری از مطالعات در سطح گستردهٔ ژن‌ها نشان داده است که قسمتی به فاکتور سیگما ۳۲ متصل می‌شود متفاوت از قسمت اتصال فاکتورهای سیگمای مربوط به ژن‌های خانه‌دار یعنی فاکتور سیگما ۷۰ است. به‌طور اختصاصی ترادف متعارف برای اتصال به جعبهٔ ۳۵- فاکتور سیگما ۳۲، TTGAAA خیلی شبیه به ترادف متعارف TTGACA فاکتور سیگما ۷۰ است. امّا ترادف متعارف برای اتصال به جعبهٔ ۱۰- فاکتور سیگما ۳۲، CCCCATNT هیچ شباهتی به ترادف متعارف برای اتصال به جعبهٔ ۱۰- فاکتور سیگما ۷۰، هگزامر TATAAT ندارد (۴۳، ۴۵).

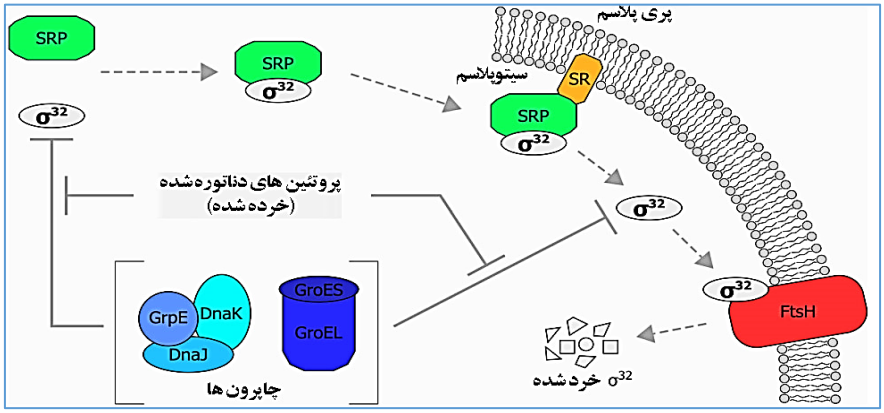


شکل ۱- طرح کلیِ منطقهٔ بالادست توالی کدگذاری ژن *Rpo*H (فلش طوسی) شامل پنج پروموتور با فلش‌های خم‌شده و نام‌های P1 و P3 تا P6 نشان داده‌شده که توسط فاکتورهای سیگمای مختلف تشخیص داده می شوند (فاکتورهای سیگما زیر هر پروموتور مشخص شده‌اند). رونویسی برخی از این پروموترها توسط تنظیم‌کننده‌های رونویسی انجام می‌شود: فلش تنظیم مثبت (راست) درحالی‌که سر چکش‌ها تنظیم منفی را نشان می‌دهد (چپ) در شکل سمت چپ. طرح کلی ساختار ثانویه mRNAی ژن *Rpo*H در دمای فیزیولوژیک. توالی رونویسی از اهمیت به‌سزایی برای شروع ترجمه در نزدیک محل اتصال ریبوزوم و کدون شروع AUG در ساختارهای دو رشته‌ای برخوردار هستند که می‌توانند منجر به اتصال ناکارآمد به ریبوزوم شوند (دایرهٔ نقطه‌چین طوسی بخشی از این توالی‌های شروع ترجمه را نشان داده) در شکل وسط نمای بزرگ‌شده از منطقه mRNAی *Rpo*H که در شروع ترجمه نقش دارد، مشخص شده است. درحالی‌که در شرایط رشد طبیعی اتصال به ریبوزوم با تشکیل ساختار ثانویه ممانعت می‌شود در دمای بالا ذوبِ جزیی ساختار ثانویهٔ mRNA باعث افزایش ورود ریبوزوم و شروع ترجمه می‌گردد. خطوط سیاه نشان‌دهندهٔ جفت شدن بازها بر اساس مدل واتسون-کریک است (در شکل سمت راست) (۳۸).

افزایش نسخه‌برداری از ژن‌های مربوط به پاسخ در برابر تنش‌های حرارتی در زمان افزایش درجهٔ حرارت و انتقال باکتری به دماهای بالاتر به‌طور مستقیم به فاکتور سیگمای فعال در سلول دارد. در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس مقدار این فاکتور سیگما بسیار کم و نیمه‌عمری در حدّ چند دقیقه دارد. در شرایط تنش حرارتی میزان این سیگمای فاکتور و مقاومت آن افزایش پیدا می‌کند. اگرچه سطح این فاکتور سیگما وابسته به مکانیسم‌های تنظیمی پس از نسخه‌برداری است، امّا کنترل نسخه‌برداری ژن *Rpo*H معمولاً پیچیده است. منطقهٔ بالادستی ترادف کد کنندهٔ *rpo*H دارای ۵ پروموتور (P1، P3، P4، P5 و P6) است که با فاکتورهای سیگما و محرک‌های مختلف شناسایی می‌شود. پروموتور P4 و P5 با RNA پلی‌مراز دارای فاکتور سیگما ۷۰ و پروموتورهای P3 و P6 با فاکتورهای سیگما ۲۴ و ۵۴ شناسایی می‌شوند. پروموتور P1 نیز توسط فاکتور سیگما ۷۰ یا فاکتور سیگما S وابسته به اینکه باکتری در چه فازی از رشد باشد، شناسایی می‌شود (شکل ۱ سمت چپ). علاوه‌بر آن پروموتر P6 حساس به کاتابولیک بوده و نسخه‌برداری آن وابسته به سطح cAMP و فعال‌کننده‌های CRP است. وقتی این دو ساختار باهم هستند، همراه با R Cyt ضدفعال‌کننده می‌توانند یک مجموعهٔ مهارکننده را تشکیل دهند که پروموتورهای P3، P4 و P5 را پوشش می‌دهند. علاوه‌بر آن پروتئین DnaA که یک پروتئین مسئول در شروع همانندسازی است در تنظیم ژن *rpo*H با مهار پروموتورهای P3 و P4 عمل می‌کند. همچنین کنترل در سطح ترجمه برای فاکتور سیگما ۳۲ در زمان تنش حرارتی وجود دارد. به‌علاوه افزایش در شدت ساخته شدن فاکتور سیگما ۳۲ در زمان شوک حرارتی وابستگی به افزایش نسخه‌برداری از ژن *rpo*H ندارد و نیز به‌منظور فهم ارتباط مکانیسم‌های رونویسی و یا پس از رونویسی فعالیت ژن گزارشگر LacZ با کمک اتصال به منطقهٔ ۵ نسخه‌برداری و ترجمهٔ ژن *rpo*H نشان داده شد. نتایج این مطالعات نشان دادند که افزایش تنظیم‌شدهٔ حرارتی فاکتور سیگما ۳۲ وابستگی به پروموتور *rpo*H نداشته و با سیگنال‌های ترجمهٔ mRNA ژن *rpo*H کنترل می‌شود که در زمان شوک حرارتی اتفاق می‌افتد.

مناطقی از mRNA ژن *rpo*H برای تنظیم درست فاکتور سیگما ۳۲ دارای اهمیت هستند. این مناطق با

تشکیل ساختمان ثانویه از قسمت ۵′ ترادف کد کننده نزدیک به نقطهٔ شروع ترجمه عمل کرده و از این طریق روی قدرت ترجمه تأثیر می‌گذارند (۳۸). تمام این یافته‌ها در مدل تنظیم وابسته به ترجمهٔ فاکتور سیگما ۳۲ به‌شکل همگرا آمده است. در شرایط رشد طبیعی mRNA ژن *rpo*H به‌شکل طبیعی ساختمان ثانویه پیدا کرده و تا می‌خورد (شکل ۱- قسمت میانی) همچنین ترادف‌های اصلی را به‌منظور شروع ترجمه در اطراف محل اتصال به ریبوزوم و کدون شروع AUG مخفی می‌کند. امّا در درجهٔ حرارت‌های بالا (شکل ۱- قسمت راست) ذوب جزییِ ساختمان ثانویهٔ mRNA موجب بالارفتن ورود ریبوزوم شده و ترجمه بدون اضافه شدنِ محتویات سلولی شروع می‌شود. ژن *rpo*H جز اوّلین مثال‌های ترادف‌های RNA شناخته‌شده به‌عنوان دماسنج RNA است که مکانیسم سریع پس از نسخه‌برداری، ساخته شدن پروتئین‌های شوک حرارتی را کنترل می‌کند. فاکتور سیگما ۳۲ با پروتئین‌های چاپرونی مانند DnaK، DnaJ و Grp E کنترل می‌شود. علاوه‌بر آن یکی دیگر از چاپرون‌های مهم کنترل‌کنندهٔ GroEL است که حذف آن موجب افزایش نسخه‌برداریِ ژن‌های پاسخ به شوک حرارتی می‌شود، درصورتی‌که بیان بیش از حد آن اثر معکوس دارد. همچنین فعالیت فاکتور سیگما ۳۲ بستگی به واکنش مستقیم آن با چاپرون‌های آزاد دارد. هنگامی که پروتئین‌های تانخورده در داخل سلول تجمع پیدا می‌کنند به مولکول‌های چاپرونی متصل و موجب می‌شوند که فاکتور سیگما ۳۲ به‌شکل پایدار از مجموعه جدا شود. این نکته به‌طور کامل پذیرفته شده است که درجهٔ همراهیِ پروتئین‌های چاپرونی DnaKJE/GroESL با پروتئین‌های تانخورده تعیین‌کنندهٔ سطح نسخه‌برداری ژن‌های شوک حرارتی است. اثر چاپرون‌ها روی پایداریِ فاکتور سیگما ۳۲ وابسته به پروتئازهای اختصاصی است که در تجزیهٔ آن نقش دارند. به‌طور مثال نشان داده شده است که در نژاد *اشرشیاکُلای* که فاقد متالوپروتئاز FtsH وابسته به ATP است، فاکتور سیگما ۳۲ تجمع پیدا کرده و پاسخ‌های شوک حرارتی را القا می‌نماید. همچنین مطالعات نشان داده است که یک مدل هموستازی در کنترل تولید فاکتور سیگما ۳۲ در پاسخ به محرک‌های محیطی وجود دارد. به‌طور طبیعی در مقدار کم و به‌میزانِ زیادی ناپایداری وجود دارد، همان‌طوری که درجه حرارت بالا می‌رود، میزان فاکتور سیگما ۳۲ در نتیجهٔ افزایش ترجمهٔ mRNA افزایش پیدا می‌کند. مطالعات زیادی در زمینهٔ تشخیص و شناسایی جهش‌یافته‌ها با تغییرات هموستازی انجام شده است (جهش‌های بی‌نظم) که منجر به شناسایی یک منطقهٔ کوتاه فاکتور سیگما ۳۲ شده است که در پایداری و فعالیت این فاکتور سیگما نقش دارند. باکتری *اشرشیاکُلای* که فاکتور سیگمای دارای موتاسیون در منطقه کنترل هموستازی را برعهده دارد، افزایش فعالیت و پایداری در یک مکانیسم کنترل فیدبکی (پس‌نوردی) را نشان داد (۳۸).



شکل ۲- مدل کنترل فعالیت و پایداری فاکتور سیگما ۳۲ که در آن واکنش با چاپرون‌ها انتقال آن به غشای داخلی و تخریب ناشی از پروتئاز FtsH را نشان می‌دهد. نوک فلش‌های طوسی نشان‌دهندهٔ تنظیم منفی است (۳۸).

به‌دنبال این شوک به مقدار زیادی، در مقایسه با فاکتورها سیگمای روتین ($\sigma^{۷۰}$) ساخته می‌شود. $\sigma^{۳۲}$ اجازه می‌دهد که رونویسی در پروموتورهای ژن‌های پروتئین‌های شوک حرارتی با کارایی بیشتری انجام شود که سبب افزایش سنتز این پروتئین‌ها می‌گردد. افزایش در $\sigma^{۳۲}$ متعاقب شوک حرارتی تا اندازه‌ای مربوط به افزایش در ترجمه و پایداری آن

است (بیشتر از افزایش در رونویسی *rpoH*). ترجمهٔ القاشده توسط حرارت از ژن‌های *rpoH* روی ساختمان ثانویهٔ mRNA به‌خصوص آنجایی که از نقطهٔ شروع پایین‌دست منطقهٔ کد کننده آغاز می‌شود تأثیرگذار است. عقیده بر این است که ساختمان دوم تحت شرایط طبیعی ترجمه را مهار می‌کند و این مهار در طول شوک حرارتی آزاد می‌گردد. احتمالاً ترجمهٔ σ^{32} وقتی القا می‌شود که ساختمان دوم در mRNA مثلاً به‌علت افزایش حرارت ناپایدار گردد؛ بنابراین mRNA به‌عنوان یک حسگر حرارتی (RNA ترمومتر) برای بیان σ^{32} عمل می‌کند (۳۸).

σ^{32} تحت شرایط طبیعی ساخته می‌شود امّا نیمهٔ عمر کوتاهی دارد (در حدود یک دقیقه) که با DnaK، DnaJ و GrpE ترکیب می‌گردد؛ امّا هنگام آزاد شدن توسط پروتئاز FtsH تجزیه شده و در طول شوک حرارتی به‌طور ترجیحی DnaK به پروتئین‌های تخریب‌شده متصل می‌شود و این جدایی از DnaK، σ^{32} را برای عملکرد آزاد می‌گذارد و منجر به افزایش سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی می‌شود. همچنین پاسخ به شوک حرارتی کمک می‌کند تا در شرایط دمای بالا صدمه به فرایندهای سلولی را متوقف کند. پروتئین‌های حرارتی توسط عوامل محرک شوک گرمایی ایجاد می‌شوند (شکل ۲). برخی از پروتئین‌های گرمایی که ایجاد می‌شوند چاپرون‌ها و پروتئازها هستند. این بدان معنی است که پروتئین‌ها به روش صحیح و مناسب در سلول جمع شوند (۳۸).

لیم و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که فاکتور سیگما ۳۲ همراه با غشای سیتوپلاسمی است تا اینکه در سیتوپلاسم پخش باشد. این همراهی با غشای سیتوپلاسمی در کنار قسمت‌های شناسایی و پذیرنده به‌طور مشخص بر روی پروتئین‌های پری‌پلاسمیک و غشایی عمل می‌کند که برای کنترل هموستازی در طول شوک حرارتی حیاتی هستند. مطالعه‌های درون‌تنی نشان داده است که فاکتور سیگما ۳۲ توسط قسمت شناساییِ نشانه تشخیص داده می‌شود. مدل تغییر شکل داده‌شده فعالیت و پایداری σ^{32} در شکل ۲ نشان داده شده است. مشخص گردیده است که فاکتور سیگما ۳۲ با غشای داخلی سیتوپلاسم همراه است، به‌جای این‌که در داخل سیتوپلاسم پخش باشد، با توجه به فرض قبلی که درنظر گرفته شده بود. این همراهی، با ذرات تشخیص سیگنال[1] همراه با پذیرنده است (۴۶) و فقط روی پروتئین‌های پری‌پلاسمی و غشای سیتوپلاسمی عمل می‌نماید. نکتهٔ حائز اهمیت این است که جای‌گیری فاکتور سیگما ۳۲ در غشا اجازه می‌دهد که تنظیم‌کننده‌های پاسخ در برابر حرارت وضعیت تاخوردن پروتئین‌ها را هم در سیتوپلاسم و هم در غشا نشان دهند و بین تخریب پروتئین‌های غشایی و سیتوپلاسمی در برابر پاسخ به تخریب دمایی ارتباط برقرار نمایند (۴۷، ۴۸).

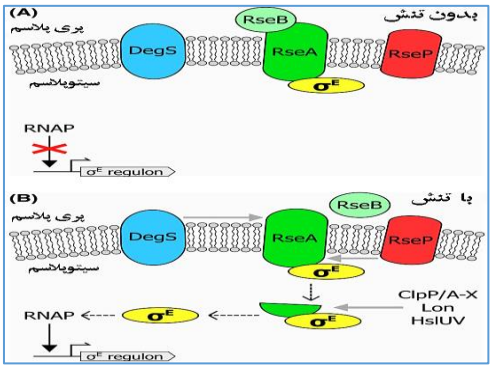
تنظیم بیان‌ژن‌ها از طریق استفاده از فاکتورهای سیگمای جایگزین تنظیم‌کنندهٔ برنامه‌ریزی مجدد بیان ژن‌ها در پاسخ به تغییرات محیطی است. فاکتور سیگما ۳۲ کنترل‌کنندهٔ بیان صدها ژن در مقابل افزایش درجه حرارت است. علاوه‌بر ژن‌های شناخته‌شده، پروتئاز و چاپرون‌ها که نقش اساسی در هموستازی را دارند، این فاکتور سیگما نقش بسیار مهمی در تنظیم فرایندهای کلیدی در سلول باکتری برعهده دارد. این فرایندها شامل محافظت مولکول‌های DNA و RNA، افزایش نسخه‌برداری و ترجمهٔ پروتئین‌ها در دمای بالا است. با توجه به برنامه‌ریزیِ انجام‌پذیرفته توسط فاکتور سیگما ۳۲، راهکاری به‌منظور عملکرد این پروتئینِ تنظیم‌کننده به‌ویژه در زمانی که باکتری به میزبان حمله می‌کند وجود دارد. به‌راستی اولین پروتئین حاوی حوزهٔ J (پروتئینی که حاوی حوزهٔ J است و می‌تواند فعالیت DnaK را تحریک نماید) توسط یک باکتریوفاژ، اخیراً جداسازی شده و پروتئین تولیدشده به نام Rki که توسط باکتریوفاژ RB43 جداسازی شده است به‌طور اختصاصی با چاپرون DnaK وارد واکنش می‌شود و موجب پایدار شدن فاکتور سیگما ۳۲ و در نتیجه تجمع پروتئین‌های شوک حرارتی می‌شود (۴۹).

۱-۷- نقش فاکتور σ^{E} شوک حرارتی در باکتری *اشرشیاکُلای*

علاوه‌بر فاکتور سیگما ۳۲ به‌عنوان تنظیم‌کنندهٔ اصلی پاسخ در برابر تنش گرمایی، تنظیم‌کنندهٔ جایگزین دیگری توسط *اشرشیاکُلای* استفاده می‌شود که به آن فاکتور σ^{E} یا σ^{24} می‌گویند. این فاکتور سیگمای جایگزین ۲۴ کیلودالتونی توسط ژن تتراسیسترونی و اپرونی *rpoE-rseA-rseB-rseC* کد می‌شود. این فاکتور سیگما عضوی از خانوادهٔ خارجِ سیتوپلاسمی فاکتورهای سیگما است که

[1] Signal Recognition Particle

به‌عنوان یک مولکول مؤثر در پاسخ به محرک‌های خارجی مانند تنش‌هایی که به دیواره یا غشای سیتوپلاسمی وارد می‌شود مانند تنش‌های اکسیداتیو واکنش می‌دهد. به‌طور اختصاصی σ^E در باکتری *اشرشیاکُلای* در برابر حرارت القا می‌شود و نسبت به تنش‌های خارجِ سیتوپلاسمی مانند تجمع پروتئین‌ها واکنش داده و فعالیت آن با مکانیسم‌های تنظیم‌شدهٔ تجزیهٔ پروتئین تعیین می‌شود (۵۲-۵۰).



شکل ۳- طرح کلی مکانیسم تنظیم فعالیت σ^E. در شرایط عادی رشد (A)، σ^E توسط عملکرد هماهنگ فاکتور ضدسیگما RseA و فاکتور کمک‌کنندهٔ ضدسیگما RseB به غشای داخلی ترشح می‌شود. در نتیجهٔ آن ژن‌های متعلق به تنظیم‌کنندهٔ σ^E از لحاظ رونویسی غیرفعال هستند. طی تنش (B)، RseA توسط آبشار پروتئولیتیک با پروتئازهای DegS و RseP مرتبط با غشا به‌طور کامل تخریب شده‌اند. به‌دنبال تخریب کامل RseA توسط پروتئازهای سیتوپلاسمی، σ^E برای تعامل با آنزیم RNA پلیمراز در دسترس است و رونویسی از پروموتورهای خاص به‌سرعت فعال می‌شود (۳۸).

تحت شرایط طبیعی رشد فاکتور σ^E به کمک آنتی‌فاکتور سیگما یعنی RseA غیرفعال نگه داشته می‌شود. پروتئین‌های RseB و RseC به‌همراه RseA باهم توسط یک اُپرون کوفاکتور σ^E بیان می‌شوند. تحت شرایط تنش پروتئین RseA به‌طور کامل توسط فعالیت مداوم پروتئازها تخریب شده و فاکتور σ^E که آزاد است با قسمت مرکزی RNA پلیمراز وارد واکنش شده و پروموتورهای منطقهٔ ۳۵- و ۱۰- را تحریک می‌کند (شکل ۳- قسمت A). در حقیقت متعاقب تنش فعالیت پروتئین DegS که یک پروتئاز همراه با غشای سیتوپلاسمی است، قسمت حوزهٔ پری‌پلاسمی پروتئین RseA را برش می‌دهد. پروتئاز دوم با عنوان RseP به‌میزان گسترده‌تری پروتئین RseA را در منطقهٔ عرض غشا تجزیه می‌کند و در سیتوپلاسم یک قسمت قطعه‌شده از انتهای C را که با فاکتور سیگما E همراه است آزاد می‌کند. آخرین مرحله از فرآیند فعال سازی σ^E شامل سایر پروتئازهای سلول‌ها مانند ClpP/X-A، Lon و یا HslUV می‌شود که به‌طور کامل بخش هضم‌نشدهٔ باقی‌مانده از RseA را در سیتوپلاسم تخریب می‌کنند (شکل ۳- قسمت B).

جای‌گیری غشایی σ^E، یک راهبُرد برای حفظ سایر فاکتورهای سیگمای جایگزین در شکل غیرفعال خود است تا زمانی که به فعالیت آن‌ها نیازی نباشد. این جریان، متفاوت با جای‌گیریِ موضعی σ^{32} در غشا است که قبلاً توضیح داده شد، مکانیسمی است که تنظیم‌کنندهٔ دینامیکی اصلی در *اشریشیاکُلای* است. رگولون σ^{32} شامل ده‌ها ژن می‌باشد که عملکردشان تازدن پروتئین‌ها در غشای سلولی و کمک به ساخته شدن و انتقال لیپوپلی‌ساکارید غشای خارجی است. همچنین هم‌پوشانی عملکردی بین فاکتور σ^{32} و σ^{70} خانه‌دار وجود دارد.

۱-۸- کنترل منفی تنظیم بیان‌ژن‌های شوک حرارتی

علاوه‌بر کنترل مثبت در بیان‌ژن‌ها توسط فاکتورهای سیگما، راهکار دیگر در کنترل نسخه‌برداریِ ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های حرارتی وابسته به مهارکننده‌ها است. تحت شرایط مناسبِ کشت، این تنظیم‌کننده‌ها به اپراتورهای خود متصل شده و بیان ژن‌های مربوط به تنش حرارتی را مهار می‌نمایند. در هنگام تنش حرارتی بیان این ژن‌ها به‌سرعت القا می‌شود. اولین نشانه‌های وجود این راهکارهای جایگزین از مطالعهٔ پاسخ‌ها در برابر تنش‌ها در *باسیلوس سوبتلیس* به‌دست آمد. در این باکتری ابتدا فرض بر این بود که RNA پلیمراز حاوی فاکتور سیگما ۲۸ نسخه‌برداری ژن‌های تنش حرارتی را کنترل می‌کند، زیرا پروموتور آن با پروموتور RNA پلیمراز حاوی فاکتور سیگما ۳۲ در *اشریشیاکُلای* هم‌پوشانی دارد. مطالعات بعدی نشان

دادند که فاکتور سیگما ۲۸ در نسخه‌برداری ژن‌های فلاژله و ژن‌های مؤثر در شیمیوتاکسی نقش داشته و در ژن‌های مولکول‌های چاپرونی مانند پروتئین‌های شوک حرارتی نقش ندارد. چانگ و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان دادند که نسخه‌برداری از ژن‌های *groELS* وابسته به فاکتور سیگما ۴۳ است و به این ترتیب می‌بایست مکانیسم‌های دیگری، مجزا از کنترل‌مثبت وابسته به فاکتورهای سیگما برای بیان‌ژن‌های تنش حرارتی وجود داشته باشد. در سال‌های اخیر چندین پروتئین مهارکنندهٔ ژن‌های شوک حرارتی شناسایی شده‌اند که مکانیسم آن‌ها به شکل تنظیم از طریق واکنش با قسمت‌های حفاظت‌شده در پروموتور ژن‌های شوک حرارتی می‌باشد. یک ویژگی مهارکننده‌های شوک حرارتی این است که علاوه‌بر تنظیم‌منفی ژن‌های هدف، پروموتورهای خود را نیز کنترل می‌نمایند. این سیستم تنظیمی که به‌عنوان خودتنظیمیِ منفی نامیده می‌شود، به‌طور گسترده در میان مهارکننده‌های نسخه‌برداری مشاهده می‌شود. به‌عنوان مثال کنترل‌منفی در ۵۰ درصد مهارکننده‌ها در *اشریشیاکُلای* مشاهده می‌شود. امروزه مشخص شده است که تنظیم نسخه‌برداریِ منفی توسط مهارکننده‌ها یک مکانیسم گسترده است که توسط باکتری‌ها برای کنترل بیان‌ژن‌های پاسخ به تنش‌های حرارتی به‌کار برده می‌شود (۵۵-۵۳).

۱-۸-۱- مهارکنندهٔ HrcA

پروتئین HrcA یک مهارکنندهٔ منفیِ گسترده ژن‌های پاسخ به شوک حرارتی در باکتری‌ها است. یک ترادف تکراریِ معکوس حاوی ۹ جفت باز است که با ۹ جفت باز مجزاکننده در منطقهٔ DNA نزدیک منطقهٔ نسخه‌برداری ژن‌های *dnaK* و *groELS* قرار گرفته است. این منطقه ترادف معکوس (IR) با عنوان ترادف CIRCE نیز شناخته می‌شود که به‌منظور کنترل بیان‌ژن‌های چاپرونی نیز به‌کار می‌رود. مهار ژن‌های شوک حرارتی پروتئین HrcA وابسته به انواع تنش‌های محیطی است. در بسیاری از موارد وقتی سلول باکتری‌ها در معرض تنش‌های زیاد مانند دما یا نمک‌های بالا قرار می‌گیرند (۳۴)، در این شرایط پروتئین‌های درست تانخورده در ستوپلاسم تجمع پیدا کرده و نسخه‌برداری از پروموتورهای کنترل‌کنندهٔ HrcA سریعاً مهار آن برداشته می‌شود. همچنین این نکته کاملاً مشخص شده است که CIRCE به‌عنوان محل اتصال در سطح DNA عمل کرده و در پایداری مولکول نسخه‌برداری‌شدهٔ RNA عمل می‌کند. تاکنون ساختمان مهارکنندهٔ کریستالی مهارکنندهٔ HrcA فقط از باکتری گرمادوست شدید *Thermotoga maritima* جداسازی شده و موردبررسی قرار گرفته است. مطالعات نشان داده است که پروتئین‌های HrcA جداسازی‌شده از گونه‌های مختلف شباهت‌های زیادی باهم ندارند. شباهت ترادف‌ها کمتر از ۳۰ درصد است، به‌جز در نمونه‌هایی که از نظر تکاملی به‌هم نزدیک هستند. تعداد ژن‌هایی که به‌طور مستقیم توسط پروتئین HrcA تنظیم می‌شوند، ژن‌های پاسخ به شرایط تنش می‌باشند. به‌عنوان مثال در باکتری پاتوژن *مایکوپلاسما جنیتالیوم*[1] ژن‌های کد کنندهٔ پروتئازهای تنشی LonB و ClPB حاوی یک منطقهٔ حفظ‌شدهٔ CIRCE است که پروتئین HrcA نقش تنظیم‌کنندهٔ منفی روی آن دارد. همچنین شواهد نشان می‌دهد که بیان‌ژن‌های *clp* در بسیاری از گونه‌های *لاکتوباسیلوس* توسط پروتئین HrcA کنترل می‌شود (۳۵، ۳۸).

۱-۸-۲- مهار کنندهٔ HspR

مهار کننده شوک حرارتی HspR برای اولین‌بار در جنس *استرپتومایسس*[2] شناسایی شد. به‌ویژه در گونهٔ *استرپتومایسس سو الیکالر*[3] ژن انتهاییِ القاکنندهٔ اُپرون *dnaK* یک پروتئین شوک حرارتی است که یک پروتئین شوک حرارتیِ شاخص شبیه به مهارکنندهٔ GlnR در گونه‌های *باسیلوس* را کد می‌کند و شبیه به خانوادهٔ تنظیم‌کنندهٔ نسخه‌برداری MerR است. مطالعات اتصال به DNA در آزمایشگاه نشان داد که پروتئین HspR می‌تواند به سه ترادف معکوس (IR1، IR2 و IR3) در منطقهٔ پروموتر dnaK متصل شود و نشان‌دهندهٔ این است که این پروتئین نقش قوی در تنظیم ژن‌های شوک حرارتی دارد. ژن‌های شبیه به *hspR* در باکتری‌های دیگر نیز شناسایی شده است. محل اتصال پروتئین HspR به نام HAIR شناخته می‌شود. تاکنون مهارکننده‌های HspR در گونه‌های مختلف باکتری‌ها شناسایی شده‌اند و ترادف HAIR نیز در بسیاری از گونه‌ها وجود دارد. این مشاهده‌ها نشان‌دهندهٔ این است

[1] *Mycoplasma Genitalicum*
[2] *Streptomyces*
[3] *Streptomyces Coelicolor*

که HspR مانع از اتصال RNA پلیمراز آن در شرایط فیزیولوژیک دمایی می‌شود. یکی دیگر از مثال‌های جالب‌توجه واسطه‌گری پروتئین‌های شوک حرارتی و پروتئین HspR در فرایندهای سلولی در باکتری *بیفیدوباکتریوم بروی* UCC 2003 مشاهده می‌شود. در این باکتری یک پاسخ SOS در نتیجهٔ شوک اکسیداتیو شبیه به تنش حرارتی ایجاد می‌شود. مهار ژن‌های تعمیرکننده توسط تنظیم‌کنندهٔ *Lex A* واسطه‌گری می‌شود که شکست و فعال شدن آن توسط پروتئین RecA انجام می‌شود. احتمالاً بیان پروتئین RecA تحت کنترل پروتئین HspR می‌باشد، شاهدی که به‌طور مستقیم مهارکننده را مرتبط به فرایندی می‌کند که *بیفیدوباکتریوم* به افزایش تخریب DNA نشان می‌دهد (۳۵، ۳۸).

۱-۸-۳- مهارکنندهٔ CtsR

ویژگی‌های پاسخ‌های تنشی در *باسیلوس سوبتلیس* حضور زیرگروهی از ژن‌های پاسخ به شوک حرارتی را نشان داد که نسخه‌برداری از آن‌ها با حضور گروهی از ژن‌های پاسخ به تنش اتفاق می‌افتاد که تحت کنترل دو پروموتر هستند، یکی از این پروموترها توسط RNA پلیمراز و با کمک فاکتور σ^{A} و دیگری وابسته به فاکتور سیگمای عمومی (σ^{B}) است. نسخه‌برداری از پروموتر ژن‌ها و اُپرون‌های *trxA*، *clpC* و *clpP* وابسته به هر دو فاکتور سیگما انجام می‌شود. این ژن‌ها در پاسخ به سیگنال‌های تنشی مختلف القا می‌شوند. به‌علاوه پروتئین CtsR ابتدا با عنوان OrF1 شناخته می‌شد؛ با انجام مطالعات بعدی و تشخیص و آنالیز محل اتصال مهارکننده با نام CtsR شناخته می‌شود. این مهارکننده به‌طور مستقیم به هفت نوکلئوتید تکراری در کنار منطقهٔ شروع نسخه‌برداری اُپرون‌های *clpC* و *clpP* متصل می‌شود. همولوگ‌های این پروتئین و ترادف‌های هدف در بالادست اُپرون *clpC* و سایر ژن‌های باکتری‌های گرم‌مثبت قرار دارد و به‌عنوان یک مهارکنندهٔ عمومی ژن‌های پاسخ به تنش حرارتی شناخته می‌شود. در باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* پروتئین CtsR با یک مکانیسم مشابه در *باسیلوس سوبتلیس* عمل می‌کند.

در این باکتری پروتئین CtsR نسخه‌برداری ژن‌های *clpC*، *clpP*، *clpE* و *clpB* با اتصال به پروموتر را مهار می‌کند (۷).

از نظر تاریخی اصلی‌ترین ژن‌های کنترل‌کنندهٔ ژن‌ها در باکتری‌های گرم‌مثبت با درصد پایین گوانین-سیتوزین می‌باشد. این تعریف بر این پایه است که پروتئین CtsR به‌طور اصلی بیان‌ژن‌های کد کنندهٔ پروتئازهای تنشی را که درگیر تجزیهٔ پلی‌پپتیدهای درست تانخورده و متجمع‌شده هستند را کنترل می‌کند. در باکتری‌های مدل مانند *باسیلوس سوبتلیس*، *لیستریا مونوسایتوژنز* و *لاکتوکوکوس لاکتیس*[1]، پروتئین CtsR نسخه‌برداری از ژن‌های clp و چاپرون‌های مولکولی DnaK و GroE وابسته به HrcA را کنترل می‌کند. در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*[2] اُپرون‌های *dnaK* و *groE* به کمک پروتئین‌های HrcA و CtsR تنظیم می‌شوند. این دو تنظیم‌کننده به محل اتصال اُپرون‌های نام‌برده وصل‌شده و به‌شکل هم‌افزایی[3] موجب کاهش بیان اُپرون‌ها در هنگام فقدان تنش می‌شوند. در برخی باکتری‌ها مانند *اُئنوکوکوس اوئنی*[4] پروتئین CtsR به‌طور مستقل ژن‌های *clp* را کنترل می‌کند. به‌این‌ترتیب پروتئین CtsR به‌عنوان تنظیم‌کنندهٔ اصلی به پروموتر ژن هدف متصل و در شرایط عادی رشد نسخه‌برداری از ژن‌ها را مهار می‌کند (۳۵، ۳۸).

۱-۸-۴- مهارکنندهٔ RheA

مهارکنندهٔ RheA یک مثال از مهارکننده‌های نسخه‌برداری پروتئین‌های شوک حرارتی با گستردگی محدود در میان باکتری‌ها است. این مهارکننده برای اولین‌بار در *استرپتومیسس آلبوس*[5] در کنار مهارکننده‌های HrcA و HspR شناسایی شد. در ابتدا یک قالب آزاد خواندنی باز به نام orfY که یک پروتئین ۲۲۵ آمینواسیدی را کد می‌کند شناسایی شد که از پروموتر مخالف جهت *hsp18* بیان می‌شود. اختلال در عملکرد orfY موجب انباشته شدن نسخه‌های رونوشت‌برداری‌شدهٔ *hsp18* حتی در دماهای پایین می‌شود. این نشان‌دهندهٔ ارتباط مستقیم یا غیرمستقیم orfY در تنظیم نسخه‌برداری *hsp18* است. مطالعات بیوشیمیایی و ژنتیکی نشان می‌دهند که orfY مهارکنندهٔ مستقیم *hsp18* است. پس از آن orfY با عنوان

[1] *Lactococcus Lactis*
[2] *Staphylococcus Aureus*
[3] Synergy
[4] *Oenococcus Oeni*
[5] *Streptomyces Albus*

RheA به‌منظور مهار پروتئین شوک حرارتی شمارهٔ ۱۸ نامیده شد. علاوه‌بر آن بیان‌ژن *RheA* *استرپتومیسس آلبوس* در *اشرشیاکُلای* موجب مهار پروموتر *hsp18* می‌شود. در *اشرشیاکُلای* ژن *LacZ* به‌عنوان ژن گزارشگر انتخاب گردید. این پروتئین به‌عنوان اولین مهارکنندهٔ پروتئین‌های شوک حرارتی کوچک شناخته می‌شود (۳۵، ۳۸).

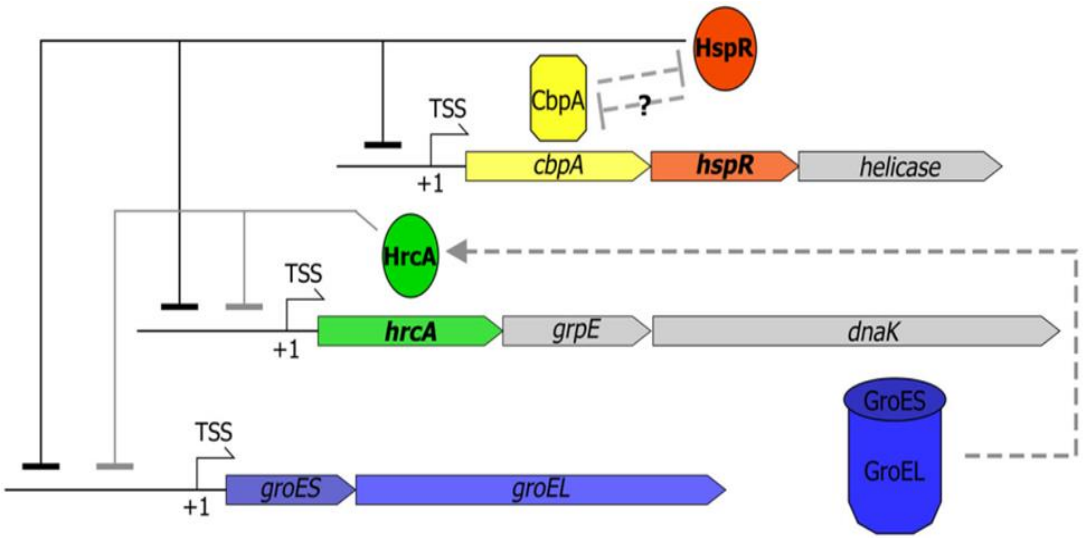
۱-۹- تنظیم مهارکننده‌های شوک حرارتی توسط مدارهای فیدبکی (پس‌نوردی)

همانند کنترل هموستازی فاکتور سیگما ۳۲، مدارهای فیدبکی فعالیت مهارکنندهٔ پروتئین‌های شوک حرارتی را با کمک چاپرون‌های مولکولی که در بسیاری از باکتری‌ها شناخته‌شده انجام می‌دهند. بلافاصله پس از شناسایی پروتئین HrcA به‌عنوان تنظیم‌کنندهٔ منفی ژن‌های کلاس I در *باسیلوس سوبتلیس*، شواهد نشان دادند که چاپرون GroE تنظیم‌کنندهٔ رگولون HrcA است (۲).

کاهش سطوح داخلی پروتئین‌های GroELS همراه با بیانِ تحتِ کنترل پروتئین HrcA که آن نیز کنترل شده توسط اُپرون *dnaK* در تمام دماها است می‌باشد. در مقایسه بیان بیش از حد پروتئین‌های GroELS موجب مهار بیش از حد نسخه‌برداری از پروتئین هدف می‌شود. متعاقب مشاهدهٔ واکنش مستقیم بین پروتئین HrcA و GroEL نقش چاپرون‌های مولکولی در فعالیت مستقیم و اتصال پروتئین HrcA به‌همراه مهارکنندهٔ همراه نقش دارد. همچنین واکنش مستقیم بین HrcA و GroE در شرایط آزمایشگاهی مدلی برای عملکردشان می باشد که تحت عنوان مدل تیتراسیون می‌باشد؛ که نشان می‌دهد پروتئین‌های GroELS در حفظ ساختاری و فعال بودن پروتئین HrcA نقش دارد. در پیِ تنش‌ها تجمع پلی‌پپتیدهای درست تانخورده موجب درگیر شدن چاپرون‌های مولکولی شده و این چاپرون‌ها دیگر نمی‌توانند با مهارکنندهٔ HrcA درگیر شوند. بدون حضور چاپرون‌ها، پروتئین HrcA توانایی اتصال خود را به DNA از دست می‌دهد و مهار ژن‌های کلاس I شوک حرارتی برداشته می‌شود. مکانیسم فیدبکی مشابه در *کلامیدیا تراکوماتیس*[1] مشاهده می‌شود، جایی که واکنش بین پروتئین HrcA و GroE با جزئیات بیشتری مورد بررسی‌وتحقیق قرار گرفته است. این باکتری در ژنوم خود سه ژن هومولوگ GroEL به نام‌های *GroEl1*، *GroEl2* و*Gro El3* دارد. این سه ژن به شکل تشکیلاتی در طول چرخهٔ زندگی باکتری بیان می‌شوند و بیان آن‌ها در پاسخ به شوک حرارتی متفاوت است. در حالی‌که نسخه‌برداری از GroEl1 به شکل منفی توسط سیستم HrcA تنظیم شده و با افزایش دما القا می‌شود؛ نسخه‌برداریِ *GroEl2* و *Gro El3*، به شوک حرارتی و تنظیم HrcA وابسته نیست. ویژگی‌های کنترل پس‌نورد (فیدبکی) HrcA در بسیاری از باکتری‌های مختلف مانند *کالوباکتر کریسنتوس*[2] و *هلیکوباکتر پیلوری* مشاهده می‌شود. این نشان‌دهندهٔ وجود یک مکانیسم مهارکنندهٔ پس از نسخه‌برداری است که در پاسخ به محرک‌های محیطی عمل می‌کند. کنترل هموستازی نسخه‌برداری تنظیم‌کننده‌های شوک حرارتی توسط کنترل‌های پس‌نورد مهارکننده‌های اصلی DnaK–HspR تأیید شدند. در مطالعات لولهٔ آزمایش مشخص شد که اتصال محکمی بین پروتئین HspR و DNA شکل می‌گیرد و وابسته به DnaK است. به‌نظر می‌رسد DnaK تحریک‌کنندهٔ اتصال HspR به DNA است. این وابستگی HspR به DnaK، غیروابسته به چاپرون‌های همراه *DnaJ* و *GrpE* است و نیاز به اضافه شدن ATP ندارد. به‌این‌ترتیب درDnaK *استرپتومایسس سو الیکالر* به‌عنوان مهارکنندهٔ همراه HspR عمل کرده و هیچ اتصال مستقیمی با DNA ندارد. نقش پروتئین DnaK در تنظیم ژن‌های شوک حرارتی هم در شرایط لولهٔ آزمایش و در داخل موجود زنده تأیید شد. مشخص گردیده که DnaK قادر است موجب مهار وابسته به HspR در آزمایش‌های نسخه‌برداری در شرایط آزمایشگاهی شود. همچنین کاهش سلولیِ پروتئین DnaK موجب بیان HspR به‌میزان زیاد در شرایط رشد طبیعی می‌شود. تمام این یافته‌ها نشان می‌دهند که کنترل پس‌نورد HspR شبیه مدل تیتراسیون GroE-HrcA است. اخیراً یک مدل فیدبکیِ متفاوت با واسطهٔ DnaK در *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*[3] شناسایی شده است. در این باکتری DnaK به‌طور مستقیم با کمپلکس HspR-HAIR وارد واکنش می‌شود و فعالیت اتصال به DNA را وابسته به ATP فعال می‌کند (۱۴). در این باکتری تنظیم HspR

[1] *Chlamydia Trachomatis*
[2] *Caulobacter Crescentus*
[3] *Mycobacterium Tuberculosis*

به‌طورکامل وابسته به DnaK نمی‌باشد. چاپرون‌های GroE، GroEl1 و GroEl2 در فعال کردن HspR دارای نقش می‌باشند. در *هلیکوباکتر پیلوری* تنظیم پس‌نورد مهارکننده‌های شوک حرارتی، یک مثال بارز است که در آن دو مولکول چاپرونی فعالیت دو تنظیم‌کنندهٔ مجزای نسخه‌برداری را کنترل می‌کند. *هلیکوباکتر پیلوری* از هر دو مهارکنندهٔ HrcA و HspR استفاده می‌نماید. فعالیت HrcA توسط چاپرون GroESL به‌شکل مدل تیتراسیون



مشابه با آن موردی که در *باسیلوس سوبتلیس* مشاهده می‌شود به‌شکل مهار پس‌نورد تنظیم می‌شود و فعالیت متصل شدن به مولکول DNA به‌جای کمک پروتئین DnaK، توسط HspR به‌شکل منفی با پروتئین شوک حرارتی CpbA کنترل می‌شود. با این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که یک دیدگاه جدید در زمینهٔ تنظیم بیان‌ژن‌های پاسخ به شوک حرارتی وجود دارد. اول اینکه اثر CpbA روی اتصال HspR به مولکول DNA (اثر منفی) مخالف با تغییراتی است که پروتئین‌های DnaK و GroE روی HspR و HrcA (اثر مثبت) دارند (۸) که این مطلب توضیح‌دهنده این است که مدل تنظیمی پس‌نوردِ چاپرونی مهارکننده‌های نسخه‌برداری برای بیان واکنش‌های CpbA-HspR در *هلیکوباکتر پیلوری* کافی نیستند و دوم اینکه با توجه به نقش CpbA هم به‌عنوان مولکولِ چاپرونی و هم به‌عنوان مولکولی که به DNA متصل می‌شود، نتایج گویای آن است که این پروتئین در *هلیکوباکتر پیلوری* هر دو عملکرد را برعهده دارد (شکل ۴) (۲۳، ۴۶ و ۵۶).

شکل۴- مدل تنظیم ژن شوک حرارتی وابسته به HrcA و HspR در *هلیکوباکتر پیلوری*. دو سرکوبگر اختصاصی رونویسی، HrcA و HspR. سه اُپرون چندسیسترونیِ حاوی ژن‌های اصلی، چاپرون *هلیکوباکتر پیلوری* را مستقیماً سرکوب می‌کنند. به‌طور خاص اُپرون cbp یک هومولوگ از پروتئین A متصل به DNA در *اشرشیاکُلای* را رمزگذاری می‌کند (CbpA)، رپرسور رونویسی شوک گرمایی HspR و پروتئینی با عملکرد هلیکازی؛ اُپرون dnak کدکنندهٔ رپرسور رونویسیِ شوک حرارتی HrcA، کمک‌کنندهٔ چاپرون GrpE و چاپرون Dnak؛ اُپرون gro سیستم چاپرونی GroES-GroEL را کد می‌کند. تنظیم مثبت فعالیت HrcA توسط چاپرون GroESL با فلش طوسی به تصویر کشیده شده است، درحالی‌که تنظیم منفی HspR توسط CbpA با چکش طوسی نمایش داده شده است. اثر منفیِ فرضی HspR بر فعالیت CbpA با یک چکش سیاه مشخص و با علامت سؤال نشان داده شده است (۳۸).

۱-۱۰- مجموعهٔ تنظیم‌کننده‌های پروتئین‌های شوک حرارتی

تنظیم نسخه‌برداری ژن‌های پاسخ به تنش حرارتی تفاوت‌هایی بین میکروارگانیسم‌های مختلف نشان می‌دهد. در بسیاری از باکتری‌ها نسخه‌برداری ژن‌های پاسخ به تنش حرارتی توسط فاکتور سیگما کنترل می‌شود. در چنین مواردی همهٔ ژن‌های حساس به درجه حرارت تحت کنترل یک تنظیم‌کننده می‌باشند. به‌عنوان مثال در باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*[1] و *ویبریو کلرا* تنظیم نسخه‌برداریِ ژن‌های تنش حرارتی توسط یک فاکتور سیگمای جایگزینِ

[1] *Pseudomonas Aeruginosa*

اختصاصی، مشابه به آن چیزی که در باکتری *اشرشیاکُلای* (فاکتور سیگما ۳۲) است انجام می‌شود. در سایر گونه‌های باکتریایی حضور کنترل‌کننده‌های مثبت و منفی در بیان‌ژن‌های پاسخ به تنش‌های حرارتی مشاهده می‌شود. به‌عنوان مثال در باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* سه گروه از ژن‌های پاسخ به تنش وجود دارد که هرکدام به‌روش مشخص، کنترل و تنظیم می‌شوند. دستهٔ اول (کد کنندهٔ چاپرون‌های DnaK و GroE) و سوم (کد کنندهٔ چاپرون‌ها و پروتئازهای Clp وابسته به ATP) به‌شکل منفی با مهارکننده‌های HrcA و CtsR کنترل می‌شوند. در مقایسهٔ ژن‌های مربوط به کلاس دوم (کد کنندهٔ پروتئین‌های تنشی) به‌طور مثبت توسط فاکتور سیگمای جایگزین، کنترل می‌شوند. این‌چنین مکانیسم‌های کنترل مثبت‌ومنفی در سایر باکتری‌ها مانند *باسیلوس سوبتلیس* و *آگروباکتریوم تومفاسینس*[1] مشاهد می‌شود (شکل ۵). در *سیانوباکتری*‌ها مکانیسم‌های کنترل مثبت‌ومنفی تنظیمِ نسخه‌برداری شامل کنترل بیان‌ژن‌های پاسخ به شوک حرارتی است (۵۷).

۱-۱۱- مکانیسم‌های حسگر دمایی در باکتری‌ها

توانایی باکتری‌ها در پاسخ سریع به افزایش درجه حرارت است که وابستگی به حسگرهای مختلف دارد. تا امروز مکانیسم‌های مختلف تنظیم دمایی در باکتری‌ها شناسایی شده است که شامل تمام مولکول‌های بیولوژیک شامل چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک (هم DNA و RNA) می‌باشند.

۱-۱۱-۱- حسگر حرارتی از طریق مولکول RNA

سریع‌ترین راه تغییر بیان‌ژن‌ها در پاسخ به تحولات آن‌ها، وابسته به قسمت سیس تنظیم‌کنندهٔ mRNA کد کنندهٔ پروتئین شوک حرارتی است. مکانیسم تنظیم حرارتی پاسخ سریع را در هنگام دریافت تنش تضمین می‌نماید، زیرا دما روی قدرت ترجمهٔ داخل سلولیِ mRNA و نسخه‌برداریِ درحال پیشرفت تأثیر دارد. ساختار اصلی بر پایهٔ تشکیل فرم Zipper ساختارهای ثانویه حساس به دما است که در مولکول mRNA انجام می‌شود. هنگام افزایش دما، ساختمان ثانویه دچار تغییر و ذوب شدن جزئی می‌گردد (۵۸). به‌این‌ترتیب ریبوزوم‌ها می‌توانند به سادگی به منطقهٔ 5´ mRNA متصل می‌شود و نسخه‌برداری افزایش پیدا می‌کند. چندین ترادف RNA حساس به درجه حرارت به‌عنوان دماسنج معرفی شده‌اند (۵۹). اوّلین دماسنج RNA در باکتری *اشرشیاکُلای* شناسایی شد که بیان فاکتور سیگمای جایگزین (سیگما ۳۲) را تنظیم می‌کند (شکل ۶ -A).

۱-۱۱-۲- حسگر حرارتی از طریق مولکول DNA

در برخی موارد تغییرات دما به‌طور مستقیم توسط مولکول DNA حس می‌شود. تغییرات شرایط محیطی موجب تغییر در مسیرهای متابولیسمی شده و نسبت ADP به ATP تغییر می‌کند. در نتیجه آنزیم‌هایی مانند DNA gyrase که نیازمند ATP برای فعالیت هستند تحت‌تأثیر قرار می‌گیرند. به همین دلیل تغییر شرایط محیطی مانند تنش‌های حرارتی و اُسمزی که فرایندهای متابولیک را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند، می‌توانند در سطح اَبَرپیچ مولکول DNA هم مؤثر باشند. تغییر در ابرپیچ مولکول DNA موجب تغییر در سطح نسخه‌برداری شده و به همین خاطر DNA می‌تواند به‌عنوان یک دماسنج در مقابل تغییرهای محیطی پاسخ دهد. یکی از مؤلفه‌های اصلی توپولوژی مولکول DNA که در برابر دما پاسخ می‌دهد تغییر در ابرپیچ شدن DNA پلاسمیدی است. هم در باکتری‌های مزوفیل و حرارت‌دوستِ شدید، تغییرِ سریعِ درجه حرارت موجب تغییر در ساختار توپولوژی مولکول DNA پلاسمیدی شده و در نتیجهٔ آن تغییر نسخه‌برداری می‌شود. هچنین می‌توان گفت که اهمیت مولکول DNA به‌عنوان دماسنج حرارتی در بیان‌ژن‌های پاسخ به تنش‌های حرارتی دارای اهمیت بیشتری نسبت به بیان‌ژن‌های بیماری‌زایی دارد (شکل ۶ -B) (۶۰).

۱-۱۱-۳- پروتئین‌های مختلف به‌عنوان حسگر

باکتری‌ها، می‌توانند پاسخ به تغییرهای محیطی را با پروتئین‌های حسگر انجام دهند. انواع مختلفی از پروتئین‌ها شامل کینازها، مهارکننده‌های نسخه‌برداری پاسخ در برابر تنش‌های محیطی و چاپرون‌ها به‌عنوان دماسنج حرارتی عمل می‌کنند. در میان این پروتئین‌ها می‌توان به CtsR، Rhe R (در *استرپتومیست*‌ها) و Hrc A در سویه‌های *باسیلوس*‌ها اشاره کرد (۶۱).

۱-۱۲- مطالعات اومیکس[2] در زمینهٔ تنش‌های حرارتی در باکتری‌ها

لی وانگ و همکاران در سال ۲۰۲۳ سازگاری دمایی را بر روی یک سویهٔ از *آنتروکوکوس فاسیوم*[3] وحشی (RS047) به‌منظور به‌دست آوردن یک جهش‌یافتهٔ مقاوم به

[1] *Agrobacteriu Tumefaciens*
[2] Omics
[3] *Enterococcus Faecium*

حرارت انجام دادند. آنالیز چندین اومیکس ترانسکریپتوم و متابولومیکس در زمینهٔ مقاومت دمایی سویهٔ جهش‌یافته انجام شد. حدود ۹۸ ژن شناسایی شدند که به‌شکل متفاوت بیان می‌شدند و ۱۱۵ متابولیت متفاوت در سویهٔ جهش‌یافته مشاهده شدند که در پاسخ به مقاومت حرارتی نقش دارند. تغییر در بیان برخی از ژن‌ها پاسخ به افزایش چگالی جمعیت که در تنظیم بیوفیلم نیز نقش دارند دیده می‌شود. همچنین در این شرایط مواد محلول اُسموتیک مانند: پوترسین، اسپرمیدین، گلیسین بتائین و ترهالوز ۶-فسفات به‌منظور نقل‌وانتقال از غشا تجمع می‌کنند. در مرحلهٔ بعد بیان‌ژن‌های مربوط به متابولسیم اسیدهای آلی و بازهای پورینی نیز متوقف می‌گردد (۶۲).

مطالعهٔ ترانسکیپتوم و متابولومیکس مکانیسم‌های تحمل‌پذیری حرارتی در *اشرشیاکُلای* توسط سینئون کن در سال ۲۰۲۴ بررسی گردید. در این پژوهش یک کشت کِموستات[1] انجام پذیرفت تا تغییرهای شرایط فیزیکوشیمایی و بیولوژیک به حداقل برسد و بتوان حداکثر پاسخ به شرایط را از نظر تغییر درجه حرارت موردبررسی قرار داده و مطالعات ترانسکریپتوم و متابولومیک نیز انجام گیرد (۶۳).

باکتری مورداستفاده، *اشرشیاکُلای* BL21(DE3) بود. درجه حرارت آن از ۳۷ درجهٔ سلسیوس به ۴۷ درجهٔ سلسیوس تغییر پیدا کرد. سپس پروفایل اومیکس در مراحل اولیه، میانی و انتهای تنش حرارتی بررسی گردید. تنش ادامه‌دار بیان کلی ژن‌ها را تحت‌تأثیر قرار داد. کاهش بیان‌ژن فاکتور سیگمای حساس به شوک دمایی (*rpoE*) به‌دنبال شوک دمایی مشاهده شد و میزان تولید *تره هالوز*[2]، *کاداورین*[3] و *اِنتروباکتین*[4] در هنگام تنش حرارتی افزایش پیدا کرد. درنهایت ژن‌هایی که در مرحلهٔ انتهایی بیان شدند مسئول تحمل‌پذیری می‌باشند (۶۴).

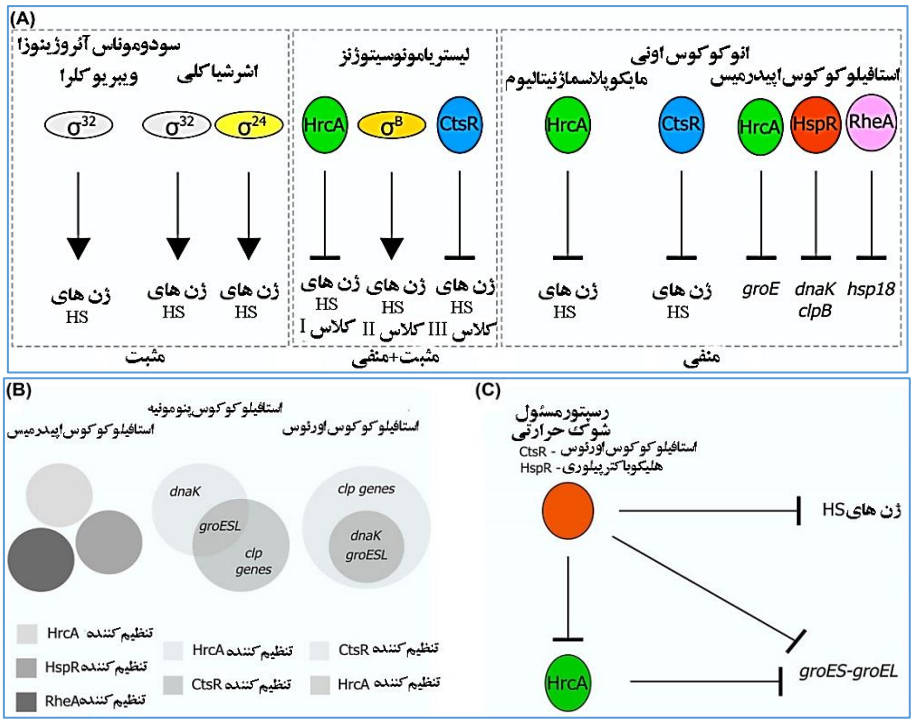
۲- نتیجه‌گیری

در این مطالعهٔ مروری، اهمیت پاسخ‌های ناگهانیِ گونه‌های مختلف باکتری‌ها در برابر تغییرهای دمایی موردبررسی قرار گرفت. همچنین مکانیسم‌های کلیدی که باکتری‌های مختلف برای پاسخ در برابر آسیب‌های مختلف اتخاذ می‌کنند، درنظر قرار گرفته است. مکانیسم‌های محافظت‌شده علیه تنش‌های محیطی که به‌عنوان پاسخ شوک حرارتی شناخته می‌شوند با استراتژی‌های مختلفی کنترل می‌شوند. کنترل نسخه‌برداری ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های حرارتی با کمک پروتئین‌های مختلفی انجام می‌شود که اثرهای مثبت‌ومنفی بر نسخه‌برداریِ آنزیم RNA پلیمراز دارند. باکتری *اشرشیاکُلای* همیشه یک مدل اصلی برای مطالعه‌ها و فعالیت‌های القای تنش و نسخه‌برداریِ فاکتورهای سیگمای جایگزین هستند. پس از دهه‌ها پژوهش در زمینهٔ فاکتور سیگما ۳۲ که در پاسخ به تنش حرارتی ایفای نقش دارد، مشخص شده است که کنترل‌های نسخه‌برداری و ترجمه با کمک پروتئین‌های چاپرونی در پایداریِ فاکتور سیگما ۳۲ دارای نقش می‌باشند. کنترل منفی نسخه‌برداریِ ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های حرارتی در باکتری‌های مختلفی مشاهده شده است. همچنین عملکرد مهارکننده‌های اصلی پروتئین‌های شوک حرارتی، مانند اتصال به DNA، ویژگی‌های تنظیم‌کننده و بیوشیمیایی آن‌ها مشخص شده است. در برخی از موارد مدارهای مختلف نسخه‌برداری دارای ساختار پیچیده بوده و نسخه‌برداری دارای حلقه‌های پس‌نورد کنترل‌شونده است که ویژگی‌های تنظیم‌کنندگی آن قابل پیش‌بینی نیست. به همین منظور این نظریه مطرح می‌شود که آیا استفاده از این راهبُردهای پیچیده ناشی از حوادث تکاملی است یا راه‌حل‌های پاسخ ؟!

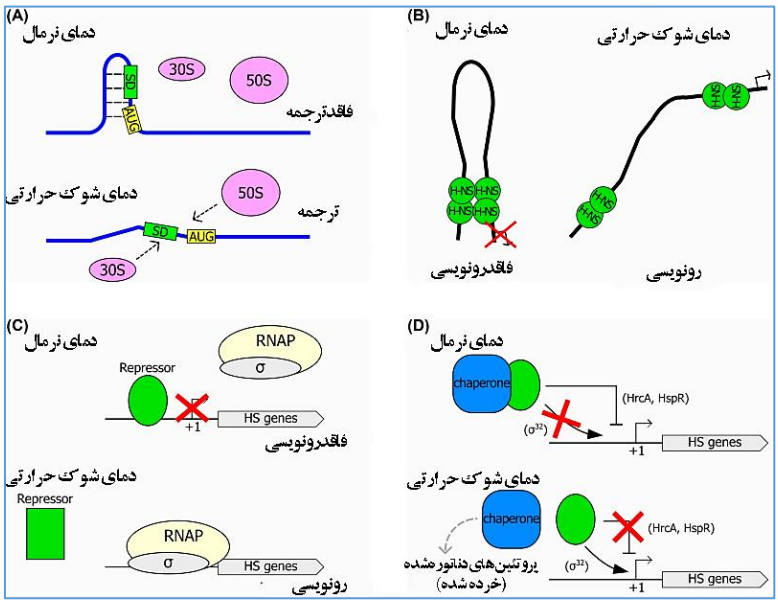
به‌علاوه این راه‌حل‌های پاسخ توسط سیستم تنش حرارتی است و امروزه با پیشرفت‌هایی همراه شده، همچنین مدل‌سازی‌های کامپیوتریِ تحقیقات آن در این زمینه درحال انجام است.

یکی دیگر از جنبه‌های جالب، تنظیم ژن‌های پروتئین‌های تنش حرارتی مربوط به ترکیبی از تنظیم‌کننده‌های رونویسی مختلف است که دارای شمایی از تنظیم‌کنندگیِ پیچیده بوده و در باکتری‌هایی مانند *هلیکوباکتر پیلوری* و *استافیلوکوکوس اورئوس* دیده می‌شود. امروزه با توسعه و کاربرد تکنیک‌های اومیکس می‌توان جزئیات بیشتری از تنظیم‌کننده‌های شوک حرارتی داشت. علاوه‌بر آن مطالعات ژنومیکس عملکردی دانش ما را در زمینهٔ پاسخ به تنش‌های حرارتی در باکتری‌ها و کنترل این پاسخ‌ها افزایش داده است.

[1] Chemostat
[2] Trehalose
[3] Cadaverine
[4] Enterobactin



شکل ۵- ترکیبی از تنظیم‌کننده‌های رونویسی شوک حرارتی و مدارهای تنظیمی پیچیده. (A) در برخی از گونه‌های باکتریایی رونویسی شوک حرارتی منحصراً با مکانیسم‌های تنظیم مثبت (عکس چپ) یا منفی (عکس راست) کنترل می‌شود، در چندین مورد استراتژی‌های کنترل مثبت‌ومنفی در کنارهم (عکس مرکزی) وجود دارد. فلش‌های سیاه نشان‌دهندهٔ تنظیم مثبت است، درحالی‌که سر چکش تنظیم منفی را نشان می‌دهند. (B) مثال‌هایی که در آن‌ها از رسپتورهای رونویسی متمایز برای کنترل بیان‌ژن شوک حرارتی استفاده می‌شود. در *S. albus* رسپتورهای HrcA، HspR و RheA مجموعه‌های جداگانه‌ای از ژن‌ها را تنظیم می‌کنند، درحالی‌که تنظیم‌کننده‌های HrcA و CtsR در *S. pneumonia* تا حدی هم‌پوشانی دارند. تنظیم‌کنندهٔ HrcA در *S. aureus* به‌طور کامل در داخل تنظیم‌کنندهٔ CtsR تعبیه شده است. (C) طرح کلی حلقهٔ پیش‌روندهٔ نامنسجم که بر تنظیم ژن شوک حرارتی در *S. aureus* و *H. pylori* حاکم است. یک تنظیم‌کنندهٔ اصلی با رنگ قرمز نشان داده شده است (HspR برای *H. pylori* یا CtsR برای *S. aureus*)، که چندین ژن شوک حرارتی را سرکوب می‌کند. در میان این ژن‌ها، اُپرون groESL نیز توسط تنظیم‌کنندهٔ HrcA سرکوب می‌شود، که به نوبهٔ خود تحت‌کنترلِ سرکوب‌کنندهٔ اصلی است (۳۸).



شکل ۶- مکانیسم‌های حسگر دما. (A) حسگر از طریق RNA شامل ساختارهای ثانویهٔ حساس به دما در منطقه '5از mRNA تحت این نوع تنظیم است. در شرایط عادیِ رشد، ساختارهای ثانویه و عناصر توالی که برای شروع کارآمد ترجمه مهم هستند، پوشانده شده و برای اتصال ریبوزوم به شکل ضعیف در دسترس هستند. با افزایش دما، تغییر ساختار یا تفکیک ساختار، مثل عناصر توالی و ترجمه افزایش می‌یابد. نمادها: SD، عناصر توالی Shine-Dalgarno، کدون شروع AUG. (B) حسگر دما از طریق DNA: مدل تنظیم وابسته به دما برای رونویسی *virF* در *S. flexneri*. ناحیهٔ DNA که توسط مکان‌های اتصال H-NS احاطه شده است و دارای انحنا در دمای پایین است که اجازه می‌دهد، بین دایمرهای H-NS متصل به محل‌های اتصال جداگانه و تشکیل یک مجموعهٔ سرکوب‌کنندهٔ نوکلئوپروتئین انجام شود. در دمای

بالاتر این انحنای ضعیف و پروموتر برای رونویسی ژن *virF* در دسترس RNA پلیمراز قرار می‌گیرد. (C) تنظیم‌کننده‌های رونویسی به‌عنوان سنسورهای حرارتی که ذاتی هستند؛ سنسورهای حساس به گرمای ذاتی قادر به اتصال DNA در دمای مجاز هستند (بیضی شکل سبز)، و رونویسی ژن‌های شوک حرارتی سرکوب می‌شوند. پس از چالش حرارتی، یک تغییر ساختاری ناشی از دما (با یک مستطیل سبز نشان داده شده است) منجر به کاهش فعالیت اتصال‌دهندهٔ DNA به رپرسور می‌شود و رونویسی از حالت سرکوب خارج می‌شود. (D) مکانیسم غیرمستقیم احساس گرما با واسطهٔ چاپرون‌ها. فعالیت اتصال DNA در تنظیم‌کننده‌های رونویسی توسط چاپرون‌ها تنظیم می‌شود. در شرایط رشد طبیعی چاپرون با تنظیم‌کنندهٔ شوک حرارتی تعامل داشته و عملکرد تنظیم‌کنندهٔ خود را اعمال می‌کند. چندین رپرسور تنظیم‌شده به‌طور مثبت (مانند HspR و HrcA در برخی از گونه‌های باکتریایی) برهم‌کنش چاپرون با فعالیت اتصال DNA حاصل می‌شود، درحالی‌که در موارد دیگر تعامل با چاپرون منجر به ترشح فعال‌کننده‌ها می‌شود (به‌عنوان مثال σ^{32} در *اشرشیاکلای*). به‌دنبال استرس گرمایی، چاپرون‌ها توسط پروتئین‌های تاخورده در سیتوپلاسم تجمع می‌یابند و تنظیم‌کننده‌های رونویسی آزاد می‌شوند و نتایج فعالیت اتصال DNA به‌طور مثبت یا منفی تحت‌تأثیر قرار می‌گیرند (۳۸).

در انتها لازم به‌ذکر است که پروتئین‌هایی که در نتیجهٔ تنش‌های حرارتی تولید می‌شوند، عملکرد مهمی در پایداریِ حرارتی، ممانعت از جدا شدن‌های ساختاری و پروتئولیز دارند که ویژگی‌های بیان‌شدهٔ این پروتئین‌های شوک حرارتی در زمینه‌های نانوبیوتکنولوژی، پروتئومیکس، تولیدهای بیولوژیک و جداسازی‌های زیستی دارای کاربرد است. علاوه‌بر آن با کمک مطالعه بر روی این پروتئین‌های تنش حرارتی می‌توان در زمینهٔ خالص‌سازی و مهندسی پروتئین‌های داخل سیتوپلاسمی و پری‌پلاسمیک نیز بهره برد. همچنین مطالعه‌های ترادف‌یابی ژنی نیز امروزه در این زمینه بسیار مؤثر می‌باشند.

۳- ملاحظات اخلاقی

ندارد

۴- تعارض منافع

ندارد

۵- منابع

1.Guldimann C, Boor KJ, Wiedmann M, Guariglia-Oropeza V. Resilience in the face of uncertainty: sigma factor B fine-tunes gene expression to support homeostasis in Gram-positive bacteria. Applied and environmental microbiology. 2016;82(15):4456-69.
2.Guisbert E, Yura T, Rhodius VA, Gross CA. Convergence of molecular, modeling, and systems approaches for an understanding of the Escherichia coli heat shock response. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2008;72(3):545-54.
3.Barna J, Csermely P, Vellai T. Roles of heat shock factor 1 beyond the heat shock response. Cellular and Molecular Life Sciences. 2018;75:2897-916.
4.Ron EZ. Bacterial stress response. The prokaryotes. 2006:1012-27.
5.Requena JM. Stress response in microbiology: Caister Academic Press Norfolk, UK; 2012.
6.Faezi-Ghasemi M, Kazemi S. Effect of sub-lethal environmental stresses on the cell survival and antibacterial susceptibility of Listeria monocytogenes PTCC1297. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2015;17(1).
7.da Cruz Nizer WS, Inkovskiy V, Overhage J. Surviving reactive chlorine stress: responses of gram-negative bacteria to hypochlorous acid. Microorganisms. 2020;8(8):1220.
8.Havis S, Rangel J, Mali S, Bodunrin A, Housammy Z, Zimmerer R, et al. A color-based competition assay for studying bacterial stress responses in Micrococcus luteus. FEMS microbiology letters. 2019;366(5):fnz054.
9.Madigan M, Bender K, Buckley D, Sattley W, Stahl D. Brock biology of microorganisms. 15th Global Edition. Boston, US: Benjamin Cummins. 2018;1:1391-407.
10.Ventura M, Canchaya C, Zhang Z, Bernini V, Fitzgerald GF, Van Sinderen D. How high G+ C Gram-positive bacteria and in particular bifidobacteria cope with heat stress: protein players and regulators. FEMS microbiology reviews. 2006;30(5):734-59.
11.Dorman CJ, Corcoran CP. Bacterial DNA topology and infectious disease. Nucleic acids research. 2009;37(3):672-8.
12.De Reuse H, Vinella D, Cavazza C. Common themes and unique proteins for the uptake and trafficking of nickel, a metal essential for the virulence of Helicobacter pylori. Frontiers in cellular and infection microbiology. 2013;3:94.
13.Henderson B, Martin A. Bacterial virulence in the moonlight: multitasking bacterial moonlighting proteins are virulence determinants in infectious disease. Infection and immunity. 2011;79(9):3476-91.
14.Hanson BR, Tan M. In vivo analysis of Chlamydia stress response. Molecular Microbiology. 2015;97(6):1158-67.
15.Ojha A, Anand M, Bhatt A, Kremer L, Jacobs WR, Hatfull GF. GroEL1: a dedicated chaperone involved in mycolic acid biosynthesis during biofilm formation in mycobacteria. Cell. 2005;123(5):861-73.
16.Lee AM, Ross CT, Zeng B-B, Singleton SF. A Molecular Target for Suppression of the Evolution of Antibiotic Resistance: Inhibition of the Escherichia c oli RecA Protein by N 6-(1-Naphthyl)-ADP. Journal of medicinal chemistry. 2005;48(17):5408-11.
17.Vinella D, Albrecht C, Cashel M, d'Ari R. Iron limitation induces SpoT-dependent accumulation of ppGpp in Escherichia coli. Molecular microbiology. 2005;56(4):958-70.
18.Battesti A, Bouveret E. Acyl carrier protein/SpoT interaction, the switch linking SpoT-dependent stress response to fatty acid metabolism. Molecular microbiology. 2006;62(4):1048-63.
19.Atkinson GC, Tenson T, Hauryliuk V. The RelA/SpoT homolog (RSH) superfamily: distribution and functional evolution of ppGpp synthetases and hydrolases across the tree of life. PloS one. 2011;6(8):e23479.

20.Călinescu O, Paulino C, Kühlbrandt W, Fendler K. Keeping it simple, transport mechanism and pH regulation in Na+/H+ exchangers. Journal of biological chemistry. 2014;289(19):13168-76.
21.Sohlenkamp C, Geiger O. Membrane homeostasis in bacteria upon pH challenge. Biogenesis of fatty acids, lipids and membranes. 2017:1-13.
22.Czapski TR, Trun N. Expression of csp genes in E. coli K-12 in defined rich and defined minimal media during normal growth, and after cold-shock. Gene. 2014;547(1):91-7.
23.Keto-Timonen R, Hietala N, Palonen E, Hakakorpi A, Lindström M, Korkeala H. Cold shock proteins: a minireview with special emphasis on Csp-family of enteropathogenic Yersinia. Frontiers in microbiology. 2016;7:1151.
24.Jin B, Jeong K-W, Kim Y. Structure and flexibility of the thermophilic cold-shock protein of Thermus aquaticus. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2014;451(3):402-7.
25.Lee J, Jeong K-W, Jin B, Ryu K-S, Kim E-H, Ahn J-H, et al. Structural and dynamic features of cold-shock proteins of Listeria monocytogenes, a psychrophilic bacterium. Biochemistry. 2013;52(14):2492-504.
26.Phadtare S, Severinov K. Extended− 10 motif is critical for activity of the cspA promoter but does not contribute to low-temperature transcription. Journal of bacteriology. 2005;187(18):6584-9.
27.FAEZI GM. Effect of environmental stresses on growth pattern, biofilm formation and biochemical characteristics of Mycobacterium marinum CCUG20998. 2016.
28.Hajian Z, Ghasemi MF, Alikhani F. The study of stress conditions on growth and proteome of Raoultella planticola: a new emerging pathogen. Archives of Microbiology. 2021;203(6):3269-78.
29.H S Emampour MFG. Evaluation of changes in rpoH gene expression in Escherichia coli PTCC 1399 caused by temperature stress using Real-time PCR method: Islamic Azad niversity; 2019.
30.Faezi Ghasemi M, Alikhani F. The Impact of Overexpression of Sigma Factors on Morphological Changes, Growth Pattern, and Biofilm Formation in Mycobacterium marinum CCUG 20998. Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases. 2016;4(3):68-75.
31.M Faezi Gasemi SA. Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicne (First Edition): Islamic Azad University Press. ; 2012.
32.Shires K, Steyn L. The cold-shock stress response in Mycobacterium smegmatis induces the expression of a histone-like protein. Molecular Microbiology. 2001;39(4):994-1009.
33.Di Pietro F, Brandi A, Dzeladini N, Fabbretti A, Carzaniga T, Piersimoni L, et al. Role of the ribosome-associated protein PY in the cold-shock response of E scherichia coli. Microbiologyopen. 2013;2(2):293-307.
34.De Angelis M, Di Cagno R, Huet C, Crecchio C, Fox PF, Gobbetti M. Heat shock response in Lactobacillus plantarum. Applied and Environmental Microbiology. 2004;70(3):1336-46.
35.Ruiz L, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M, de Los Reyes-Gavilán CG, Margolles A, Sánchez B. How do bifidobacteria counteract environmental challenges? Mechanisms involved and physiological consequences. Genes & nutrition. 2011;6:307-18.
36.Rezzonico E, Lariani S, Barretto C, Cuanoud G, Giliberti G, Delley M, et al. Global transcriptome analysis of the heat shock response of Bifidobacterium longum. FEMS microbiology letters. 2007;271(1):136-45.
37.Schmidt G, Zink R. Basic features of the stress response in three species of bifidobacteria: B. longum, B. adolescentis, and B. breve. International Journal of Food Microbiology. 2000;55(1-3):41-5.
38.Roncarati D, Scarlato V. Regulation of heat-shock genes in bacteria: from signal sensing to gene expression output. FEMS microbiology reviews. 2017;41(4):549-74.
39. Ventura M, Canchaya C, Zhang Z, Fitzgerald GF, van Sinderen D. Molecular characterization of hsp20, encoding a small heat shock protein of Bifidobacterium breve UCC2003. Applied and environmental microbiology. 2007;73(14):4695-703.

40. Nielsen M-B, Knudsen GM, Danino-Appleton V, Olsen JE, Thomsen LE. Comparison of heat stress responses of immobilized and planktonic Salmonella enterica serovar Typhimurium. Food microbiology. 2013;33(2):221-7.
41. Guan J, Xiao X, Xu S, Gao F, Wang J, Wang T, et al. Roles of RpoS in Yersinia pseudotuberculosis stress survival, motility, biofilm formation and type VI secretion system expression. Journal of microbiology. 2015;53:633-42.
42. Johnston M, Brown M. An investigation into the changed physiological state of Vibrio bacteria as a survival mechanism in response to cold temperatures and studies on their sensitivity to heating and freezing. Journal of Applied Microbiology. 2002;92(6):1066-77.
43. Koo BM, Rhodius VA, Campbell EA, Gross CA. Dissection of recognition determinants of Escherichia coli σ32 suggests a composite− 10 region with an 'extended− 10'motif and a core− 10 element. Molecular microbiology. 2009;72(4):815-29.
44. Nonaka G, Blankschien M, Herman C, Gross CA, Rhodius VA. Regulon and promoter analysis of the E. coli heat-shock factor, σ32, reveals a multifaceted cellular response to heat stress. Genes & development. 2006;20(13):1776-89.
45. Wade JT, Roa DC, Grainger DC, Hurd D, Busby SJ, Struhl K, et al. Extensive functional overlap between σ factors in Escherichia coli. Nature structural & molecular biology. 2006;13(9):806-14.
46. Bandyopadhyay B, Das Gupta T, Roy D, Das Gupta SK. DnaK dependence of the mycobacterial stress-responsive regulator HspR is mediated through its hydrophobic C-terminal tail. Journal of bacteriology. 2012;194(17):4688-97.
47. Lim B, Miyazaki R, Neher S, Siegele DA, Ito K, Walter P, et al. Heat shock transcription factor σ32 co-opts the signal recognition particle to regulate protein homeostasis in E. coli. PLoS Biology. 2013;11(12):e1001735.
48. Miyazaki R, Yura T, Suzuki T, Dohmae N, Mori H, Akiyama Y. A novel SRP recognition sequence in the homeostatic control region of heat shock transcription factor σ32. Scientific reports. 2016;6(1):24147.
49. Perrody E, Cirinesi A-M, Desplats C, Keppel F, Schwager F, Tranier S, et al. A bacteriophage-encoded J-domain protein interacts with the DnaK/Hsp70 chaperone and stabilizes the heat-shock factor σ32 of Escherichia coli. PLoS Genetics. 2012;8(11):e1003037.
50. Helmann JD. The extracytoplasmic function (ECF) sigma factors. 2002.
51. Missiakas D, Raina S. The extracytoplasmic function sigma factors: role and regulation. Molecular microbiology. 1998;28(6):1059-66.
52. Roncarati D, Danielli A, Scarlato V. CbpA acts as a modulator of HspR repressor DNA binding activity in Helicobacter pylori. Journal of bacteriology. 2011;193(20):5629-36.
53. Akiko O-K, Wang Y, Sachiko K, Kenji T, Yukimichi K, Fujiharu Y. Cloning and characterization of groESL operon in Acetobacter aceti. Journal of bioscience and bioengineering. 2002;94(2):140-7.
54. Alon U. Network motifs: theory and experimental approaches. Nature Reviews Genetics. 2007;8(6):450-61.
55. Chang B-Y, Chen K-Y, Wen Y-D, Liao C-T. The response of a Bacillus subtilis temperature-sensitive sigA mutant to heat stress. Journal of bacteriology. 1994;176(11):3102-10.
56. Chen I-P, Michel H. Cloning, sequencing, and characterization of the recA gene from Rhodopseudomonas viridis and construction of a recA strain. Journal of bacteriology. 1998;180(12):3227-32.
57.Rajaram H, Chaurasia AK, Apte SK. Cyanobacterial heat-shock response: role and regulation of molecular chaperones. Microbiology. 2014;160(4):647-58.
58.Filloux A. Bacterial regulatory networks: Caister Academic Press London, UK:; 2012.
59.Kortmann J, Sczodrok S, Rinnenthal J, Schwalbe H, Narberhaus F. Translation on demand by a simple RNA-based thermosensor. Nucleic acids research. 2011;39(7):2855-68.
60.Hsieh L-S, Burger RM, Drlica K. Bacterial DNA supercoiling and [ATP][ADP]: Changes associated with a transition to anaerobic growth. Journal of molecular biology. 1991;219(3):443-50.

61.Klinkert B, Narberhaus F. Microbial thermosensors. Cellular and molecular life sciences. 2009;66:2661-76.
62.Wang L, Qiao L, Li A, Chen L, He B, Liu G, et al. Integrative Multiomics Analysis of the Heat Stress Response of Enterococcus faecium. Biomolecules. 2023;13(3):437.
63.Chen W, Guo W, Li Y, Chen M. Integrative analysis of metabolomics and transcriptomics to uncover biomarkers in sepsis. Scientific Reports. 2024;14(1):9676.
64.Kim S, Kim Y, Suh DH, Lee CH, Yoo SM, Lee SY, et al. Heat-responsive and time-resolved transcriptome and metabolome analyses of Escherichia coli uncover thermo-tolerant mechanisms. Scientific Reports. 2020;10(1):17715.