

قلیاسندها

خصوصیات ژنتیکی و کاربردهای آنزیم ها

(محتوی 108 شکل و 60 جدول)

نویسنده

دکتر کوهی هوری کوهی

مترجمان

مهرنوش اسکندری تربقان

مدرس مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

مسعود اسکندری تربقان

عضو هیات علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

استاد بازنشسته موسسه تکنولوژی توکیو و موسسه تحقیقاتی فیزیک و شیمی

کوهی هوری کوهی

RIKEN ژاپن

مدیرکل آژانس علوم دریایی - زمینی و تکنولوژی (JAMSTEC)



سازمان اسناد و کتابخانه ملی جمهوری اسلامی ایران

سرشناسه : هوری کوشی، کوکی، ۱۹۳۲ - م.
Horikoshi, Kōki
عنوان و نام پدیدآور : قلیا پسندها: خصوصیات ژنتیکی و کاربردهای آنزیم‌ها/ نویسنده کوکی هوری کوشی؛ مترجمان مهرنوش اسکندری تریقان، مسعود اسکندری تریقان.
مشخصات نشر : کاتمر : انتشارات آب و آینه، ۱۳۹۵.
مشخصات ظاهری : ۲۶۴ ص.
شابک : 978-600-96364-6-4
وضعیت فهرست نویسی : فیبا

یادداشت : عنوان اصلی: Alkaliphiles: genetics propaties...c,2006.
موضوع : میکروب‌های قلیا پسند
موضوع : Alkalophilic microorganisms
موضوع : آنزیم‌های میکروبی
موضوع : Microbial enzymes
موضوع : باسیل (باکتری) -- ژنتیک
موضوع : Bacillus (Bacteria) -- Genetics
موضوع : قلیا ها -- متابولیسم
موضوع : Alkalies -- Metabolism
شناسه افزوده : اسکندری تریقان، مهرنوش، ۱۳۶۰ -، مترجم
شناسه افزوده : اسکندری تریقان، مسعود، ۱۳۴۳ -، مترجم
رده بندی کنگره : QR ۱۳۹۵۸۰ ق ۹
رده بندی دیویی : ۵۷۹/۲۴
شماره کتابشناسی ملی : ۴۲۷۲۹۰۸

نام کتاب : قلیا پسندها
خصوصیات ژنتیکی و کاربردهای آنزیم‌ها
مؤلف : پروفسور کوکی هوری کوشی
مترجمین : مهرنوش اسکندری تریقان - مسعود اسکندری تریقان
ناشر: انتشارات آب و آینه
طراح جلد: احسان دریان حسینی
شابک: 978-600-96364-6-4

تاریخ نشر: 95
نوبت چاپ: اول

تیراژ: 1000

قیمت: 15000 تومان

مرکز پخش: خراسان، کاشمر، ابتدای خیابان فاطمیه، روبه روی فاطمیه 1،
انتشارات آب و آینه- 09151337631

فهرست

صفحه

موضوع

پیش گفتار مترجمان

پیش گفتار نویسنده

بخش اول : قلیا پسندها و خصوصیات ژنتیکی آنها

1 مقدمه

1-1 قلیا پسندها چگونه موجوداتی هستند؟

2-1 تاریخچه قلیا پسندها

3-1 علت انتخاب سویه های باسیلوس

قلیا پسند برای بحث در این کتاب توسط

نویسنده

2 جداسازی، پراکنش و

طبقه بندی

ریز جانداران قلیا پسند

2-2 پراکنش

1-2-2 نمونه های خاک

2-2-2 نمونه های عمیق ترین لایه

اقلانوس

3-2-2 دریاچه های قلیایی

4-2-2 سایر منابع

3-2 طبقه بندی قلیا پسندها

1-3-2 آنالیز فیلوژنتیک قلیا پسندها بر

مبنای تجزیه و تحلیل 16S

rDNA

3 ساختار سلول

1-3 تازک

1-1-3 شکل گیری تازک و فلاژلین

2-1-3 موتور تازک

3-3 بازدارندگان موتورهای تازک

2-3 دیواره سلول

1-2-3 خواص سلولی باکتری های گرم

مقاومت خنثی پسند

2-2-3 اندازه سازی سویه های باسیلوس

قلیا پسند

3-3 غشای سلولی

4 فیزیولوژی

1-4 شرایط رشد

1-1-4 اسیدیته های محیط های رشد

2-1-4 یون سدیم

3-1-4 درجه حرارت و تغذیه

2-4 جهش یافته ها، آنژی پورترها و

قلیا پسندی

1-2-4 جداسازی و خواص جهش یافته

های حساس به قلیا

2-2-4 آنژی پورتر (pALK) جهش یافته

ها

57	توزیع موجود از ایران های <i>Mrp</i>	3-2-4	
60	ساخت ATP وابسته به تنفس	4-2-4	
60			3-4 آنزیم های درون سلولی
61	آلفا- گالاکتوسیدازها	1-3-4	
61	بتا - گالاکتوسیدازها	2-3-4	
61	RNA پاپیراز ها	3-3-4	
62	سیستم ساخت پروتئین	4-3-4	
65			5 زیست شناسی ملکولی
66			1-5 ریزچاندانان قلیا پست‌ده به عنوان منابع DNA
66	ناقل ترشحی	1-1-5	
76	پروموتورها	2-1-5	
82			2-5 سیستم های ناقل - میزبان در باسیلوس هالودورانس C-125
82	انتخاب سویه های میزبان	1-2-5	
82	پایداری آنتی بیوتیک ها در محیط کشت هوری کوشی I	2-2-5	
83	آماده سازی جهش یافته ها	3-2-5	
84	آماده سازی پروتوپلاست های پایدار، تغییر شکل و باززایی	4-2-5	
91	همجوشی سلولی در قلیا پست‌دها	5-2-5	
92	انتخاب ناقل ها (منتقل کننده ها)	6-2-5	
94	خلاصه و نتیجه گیری	7-2-5	
94			3-5 سیستم ناقل - میزبان در باسیلوس سودوفیرموس OF4
94	سویه های باکتریایی و پلاسמידها	1-3-5	
94	آماده سازی و تغییر شکل در پروتوپلاست ها	2-3-5	
95	ساخت <i>nhaC</i> - حذفی از باسیلوس سودوفیرموس OF4 (N13)	3-5	
97			6 کل توالی های ژنوم در سویه های باسیلوس قلیا پست‌ده
97			1-6 مقدمه
98			2-6 گونه های باسیلوس قلیا پست‌ده
98	ساخت نقشه فیزیکی کروموزوم باسیلوس هالودورانس C-125	1-2-6	
101	توالی یابی و گردآوری کل ژنوم مجموعه شات گان	2-2-6	
103	تفسیر	3-2-6	
104	ویژگی عمومی ژنوم باسیلوس هالودورانس C-125	4-2-6	
108			3-6 پژوهش های بعدی در زمینه تجزیه و تحلیل ژنوم باکتری قلیا پست‌ده باسیلوس هالودورانس
108	منبع رونوشت	1-3-6	

109	رونویسی و ترجمه	2-3-6
110	توانایی تغییر شکل ژنتیکی در باکتری ها و اسپورزایی	3-3-6
110	دیواره های سلولی	4-3-6
111	ترابری غشا و تولید انرژی	5-3-6
114	انتقال دهنده های ای بی سی	6-3-6
116	عناصر ژنتیکی متحرک IS (توالی های درون جای دهی) از ب. هالودورانس C-125	7-3-6
117	آبناژنوم ب. هالودورانس بوسبله صدها انتقال بر روی محیط کشت شیبدار (اسلانت ها) در طول هفده سال تغییر نمود؟	8-3-6
120	سایر ژن های مشاهده شده در ژنوم ب. هالودورانس C-125	9-3-6
125	کل توالی ژنوم باسیلوس کلوزیای KSM-K16	4-3-6
126	اسیلاوس ای هیرنسیس HT 83	5-3-6
126	تخمین اندازه ژنوم کروموزوم آشنوباسیلوس ای هیرنسیس HTE831	1-5-6
127	توالی یابی شات گمان از کل ژنوم آشنوباسیلوس ای هیرنسیس	2-5-6
128	ویژگی های عمومی ژنوم آشنوباسیلوس ای هیرنسیس	3-5-6
129	توالی های درون جای دهی مشاهده شده در آشنوباسیلوس ای هیرنسیس	4-5
129	آینده کل ژنوم دو باکتری قلیا پسند	6-6
131	بخش دوم: آنزیم های قلیا پسند ها و کاربردهای آنها	
132	7 پروتئاز های قلیایی	
132	1-7 مطالعات اولیه در زمینه پروتئاز های قلیایی قبل از سال 1994	
135	2-7 جداسازی پروتئاز های قلیایی برای مواد افزودنی در شوینده های لباس شویی	
138	3-7 جداسازی پروتئاز های قلیایی مقاوم به شوینده ها و پراکسید هیدروژن (H_2O_2)	
139	آنزیم E-1 از باسیلوس کوهنی D-6	1-3-7
143	آنزیم KP43 از باسیلوس هالمافالوس KSM-KP43	2-3-7
148	4-7 درخت اجداد تکاملی از پروتئاز های قلیایی	
149	5-7 موزدایی	
150	6-7 سابون	

151	آنزیم های تجزیه کننده نشاسته	8
151	1-8	آلفا- آمیلازها
151	1-1-8	آمیلاز باسیلوس سودو قیرموس A-40-2
153	2-1-8	آمیلاز باسیلوس سویه NRRL B-3881
153	3-1-8	آمیلاز باسیلوس هالودورانس A-59
154	4-1-8	آمیلازهای سایر قلیا پسندها
155	2-8	آنزیم های تجزیه کننده مالتو هگزاتوز
155	1-2-8	G6- آمیلاز از باسیلوس شماره 707
155	2-2-8	آنزیم G6 - آمیلاز از باسیلوس هالودورانس H-167
159	3-8	آنزیم های تجزیه کننده پولولان
160	1-3-8	پولولاناز باسیلوس هالودورانس 1-202
160	2-3-8	پولولاناز از ایزوله های قلیایی بوسيله گروه کمپانی کانو
166	3-3-8	سایر پولولانازهای قلیایی
168	4-8	آنزیم های تجزیه کننده سیکلودکسترین (CD)
169	1-4-8	تجزیه و تحلیل سیکلودکسترین ها
170	2-4-8	خالص سازی و خصوصیات آنزیم های شماره های 1-17 و 2-38
174	3-4-8	سیکلودکسترین گلوکانوترانسفر از گونه باسیلوس شماره 1011
176	4-4-8	سایر سیکلودکسترین گلوکانوترانسفر
177	5-4-8	سیکلوکسترین گلوکانوترانسفر از گونه سیکلودکسترین
181	6-4-8	ساختار و خصوصیات سیکلودکسترین
183	7-4-8	مصارف سیکلودکسترین
183	8-4-8	کاربردهای جدید سیکلودکسترین گلوکانوترانسفر
185	9	سلولازهای سویه های باسیلوس قلیا پسند
185	1-9	سلولازهای باسیلوس سلولسیتیگوس N-4
185	1-1-9	جداسازی، خصوصیت بندی و کشت باسیلوس قلیا پسند باسیلوس سلولسیتیگوس شماره N-4
187	2-1-9	خالص سازی جزئی آنزیم ها
188	3-1-9	شیه سازی ملکولی زن های سلولاز (celC و celB, celA) از

189	باسیلوس سلوسیپیتیکوس N-4	4-1-9	توالی های نوکلئوتیدی از سه ژن سلولازی <i>celA</i> ، <i>celB</i> و <i>celC</i>
189	سلولازهای کایمیریک ما بین باسیلوس سابیتیس و باسیلوس سلوسیپیتیکوس N-4	5-1-9	
191		2-9	سلولاز قلیا پستند باسیلوس آکیبایی 1139
192	جداسازی باسیلوس آکیبایی شماره 1139	1-2-9	
193	شبه سازی سلولاز قلیایی (<i>celF</i>) از باسیلوس آکیبایی 1139	2-2-9	
194	سلولازهای نشان دهنده شباهت زیاد با توالی اسید آمینه از <i>celA</i> یا <i>celF</i>	3-2-9	
200		3-9	کاربردهای صنعتی سلولازهای قلیایی
200	سلولازها به عنوان مواد افزودنی در شوینده های لباس شویی	1-3-9	
201	سلولاز قلیایی برای زباله های سلولوزی	2-3-9	
205		1-10	دستگاه رابلاتاز قلیایی از باسیلوس هالودورانس C-125 و ساخت زایلانازهای کبکریک
209		2-10	زایلانازهای قلیایی پایدار و ارزان
212		3-10	زایلانازهای جداسازی کننده برای کاربردهای صنعتی
214		4-10	بی رنگ کنندگی زیستی
216		1-11	مطالعات اولیه بر آنزیم های تجزیه کننده پکتین
216	پلم گالاکتروناز گونه باسیلوس شماره P-4-N	1-1-11	
216	پلم گالاکتروناز گونه باسیلوس شماره R-9	2-1-11	
217		2-11	مطالعات اخیر بر آنزیم های تجزیه کننده پکتین
217	<i>Pel-4A</i> و <i>BPel-4</i> از باسیلوس هالودورانس C-125	1-2-11	
219	سابر آنزیم های تجزیه کننده پکتین قلیایی	2-2-11	
225		3-11	کاربردهای صنعتی
225	تولید کاغذ زایشی (واشی)	1-3-11	
225	تصفیه فاضلاب هضم شده توسط یک سویه باسیلوس قلیا پستند	2-3-11	
226	صمغ زدایی الیاف رami	3-3-11	
227			

کننده منان

- 227 1-12 جداسازی و خصوصیات ریز جانداران
- 228 تجزیه کننده منان
- 228 2-12 خواص بتا- مناناز
- 228 3-12 بتا- منوسیداز
- 229 4-12 شبیه سازی ملکولی ژن بتا آ مناناز و بیان آن در اشریاکلی

13 لیپازها

- 233 1-13 لیپازهای سویه های بابلوس
- 233 2-13 لیپازهای سویه های سودوموناس
- 235 3-13 رویکرد متازنومیک
- 238 4-13 مصارف صنعتی
- 240
- 262

منابع

ضمیمه

پیش گفتار مترجمان

پیش بینی‌ها از روند افزایش جمعیت در ایران به حدود 104/5 میلیون نفر حکایت دارد و نیاز به افزایش عملکرد هکتاری محصولات به 2 تا 3 برابر وضعیت کنونی برای تحقق اهداف کمتی تولید محصولات زراعی در برنامه پنجم سازندگی ذکر گردیده و نیاز به افزایش سطح زیر کشت اراضی آبی از 4/7 به 13 میلیون هکتار در چشم انداز 20 ساله اعلام گردیده است. این در حالی است که در 25 سال گذشته تنها 483 هزار هکتار به سطح زیر کشت اضافه شده است. تا دهه 70 شمسی روند تولید محصولات کشاورزی با سطح زیر کشت بیانگر افزایش تولیدات همگام با افزایش سطح زیر کشت بوده و از این دهه به بعد با ثبات سطح زیر کشت، افزایش تولیدات کشاورزی بیشتر ناشی از افزایش تولید در واحد سطح می باشد. این روندها بیانگر آنست که افزایش سطح زیر کشت به دشواری امکان پذیر بوده و عمده تولید بایستی از یکارگیری سطوح زیر کشت فعلی ولی با مدیریت مناسب حاصل گردد (برنامه استراتژیک موسسه تحقیقات خاک و آب، 1394).

قلیا پستندها در محدوده pH محیطی بین 9 تا 11، pH خود را حدود 9/5 حفظ می کنند. این ریزجانداران با سیستم های انتقال پیرین در شای سیتوبلاسمی (پمپ ATP و تعویض کننده سدیم با پروتون) به فعالیت خود ادامه می دهند. در حیطه با pH قلیایی و غلظت زیاد یون سدیم، برای ریزجانداران قلیایی پستند، علاوه بر تطابق اسمزی، نگهداری متدلل pH در سطح سولول هایشان نیز مطرح است. برخی از ریزجانداران جداسازی شده از دریاچه های قلیایی، دارای pH به 8 تا 11 برای رشد هستند. آنزیم های آنها قادر به فعالیت در pH زیاد بوده که در حقیقت یکی از مکانیسم های انطباقی ریزجانداران مذکور برای رشد و بقا در pH بالا است. نسبت اسید آمینه های اسیدی در پروتئین های ریزجانداران در و قلیایی پستند نسبت به ریزجانداران شورپستند با فعالیت بهینه در اسیدینه خنثی، به طور قابل توجهی بیشتر بوده که احتمالاً چنین فراوانی بالا از اسیدآمینه های اسیدی نه تنها برای تنظیم و تطابق فشار اسمزی لازم است، بلکه برای تنظیم، درون سلولی نیز، ضروری است. قلیایی پستندهای اجباری، pH درون سلولی خود را حدود 8 تا 9 حفظ کرده که حداقل 2 واحد از محیط آنها کمتر است (تویسنده، 1999).

با توجه به سازگاری ریزجانداران با شرایط محیطی اقلیم، منطقه بدست آمده اند، جهت اهداف مختلف در بیوتکنولوژی، صنعت، کشاورزی و غیره و نیز استفاده از آنها در شرایط اقلیمی مورد نظر، مسلماً از کارایی کافی برخوردار نخواهد بود. بنابراین استفاده از ریزجانداران بومی که در اقلیم بومی منطقه سازگار هستند، برای اهداف مختلف خصوصاً در صنعت و کشاورزی از اهمیت ویژه ای برخوردار است (حاجیلو و همکاران، 1389). از آنجا که ایران دارای محیط های شور و قلیای متنوعی شامل دریاچه ها، سیاه شور و بلایایی می باشد که تنوع میکروبی آنها کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، بنابراین برای شناخت این تنوع غنی و ارزشمند میکروبی و یکارگیری آنها در زمینه های مختلف، آگاهی یافتن بر جنبه های مختلف زیستی این ریزجانداران از جمله ساختار سلولی، فیزیولوژی، زیست شناسی مولکولی، ژنتیک و آنزیم های تولیدی آنها از اهمیت فراوان برخوردار بوده و راه را برای استفاده های آتی در زمینه های گوناگون از این منابع ارزشمند هموار می سازد. از این رو باتوجه به آنکه بیش از دو سال از ترجمه کتاب حاضر "قلیا پستندها، خصوصیات ژنتیکی و کاربردهای آنزیمی" می گذرد، حال که شرایطی جهت انتشار آن به وجود آمده، تصمیم به چاپ آن گرفتیم. امید آنکه انتشار این کتاب و کتبی از این دست راه را برای پژوهشگران جوان و علاقه مندان در زمینه میکروبیولوژی افراطی پستندها و کاربردهای آنها خصوصاً از جنبه کشاورزی و تامین امنیت غذایی در شرایط تنش (خشکی، شوری و غیره) در کشورمان هموار سازد.

در پایان، با توجه به تلاش اینجانب در ترجمه متن اصلی باید اذعان نمود که کتاب، خالی از نقص و ایراد نخواهد بود؛ لذا از خوانندگان محترم تقاضا دارم اینجانب را از بیان دیدگاه ها و نواقص احتمالی آگاه فرمایند تا برای رفع آنها در چاپ های بعدی اقدام گردد.

مهرنوش اسکندری تربقان - مسعود اسکندری تربقان

پیش گفتار نویسنده

"دیدن آینده همانند ایستادن بر شانه های غول ها بود."

نامه ای به رابرت هوک، اسحاق نیوتون

پنجم فوریه، 1676

در نوامبر سال 1956، من با یک باکتری قلیا پسند¹ مواجه شدم، گرچه که به معنای واقعی کلمه، قلیا پسند نبود. در آن زمان، من دانشجوی کارشناسی ارشد در گروه شیمی کشاورزی دانشگاه توکیو² بودم که مستقیماً زیر نظر پروفیسور کین-ایچیرو ساکاگوچی³ فعالیت می کردم. خودهضمی⁴ قارچ اسپرجیلوس اوریزه⁵ موضوع پژوهش رساله دکتری من بود. به همین دلیل پروفیسور ساکاگوچی از من خواست به مطالعه خودهضمی اسپرجیلوس اوریزه که تا حدودی عجیب⁶ است، بپردازم. وی فکر می کرد که طعم و مزه نوشیدنی ژاپنی⁷ از هضم خودبه خودی اسپرجیلوس اوریزه آمده است. من هر روز سویه های موجود از اسپرجیلوس اوریزه را کشت می کردم. پس از گذشت یک هفته از کشت، آنچه که من به طور بهنجاری⁸ آن بودم، چشیدن مایع کشت شده بود (من از زبانم برای چشیدن استفاده می نمودم⁹). طبیعتاً، من کاملاً میکروب شناسی (میکروبیولوژی) ناامید شده بودم.

یک روز در ماه نوامبر، من یک ظرف کشت¹⁰ که در آن ریس (میسلیوم) اسپرجیلوس اوریزه کاملاً ناپدید شده بود را مشاهده نمودم. شب قبل، وقتی ظرف را بررسی کردم، کپک¹¹ در تمامی ظروف کشت در حال رشد و پیشرفت بود. هنوز تصاویر کاملاً واضح¹² از باکتری های در حال رشد و حرکت را به یاد می آورم، هیچ گونه ریس ای زیر میکروسکوپ مشاهده نگردید.

ریز جاندار جداسازی شده از آن ظرف باسیلوس سیرکولاس¹³ بود و فعالیت شدید ایندو-1 و 3-بتا-گلوکاناز¹⁴ در محیط کشت مایع مشخص گردید. این آنزیم، اسپرجیلوس اوریزه را هضم نمود. این اولین مرتبه ای بود که هضم سلول های کپک توسط باکتری ها مشاهده گردید که این نتایج در مجله نیچر¹⁵ به چاپ رسید (هوری کوشی و همکاران، 1958). هرچند این باکتری رشد بسیار ضعیفی را در ریس اسپرجیلوس آرایزا نشان داد و تولید ایندو-1 و 3-بتا-گلوکاناز بسیار اندک بود. از این رو، خالص سازی ایندو-1 و 3-بتا-گلوکاناز توانست در محیط کشت مایع در حضور ریس اسپرجیلوس اوریزه انجام شود. من در آن زمان تشخیص ندادم که محیط کشت دارای اسیدپتید قلیایی بود. چند سال بعد برای جداسازی ایندو-1 و 3-بتا-گلوکاناز در محیط های کشت معین¹⁶ لاش نمودم. تولید ایندو-

¹ Alkaliphilic bacterium

² Department of Agricultural Chemistry, University of Tokyo

³ Professor Kin-ichiro Sakaguchi

⁴ Autolysis: تخریب یافت یا سلول های یک موجود زنده بوسیله برخی مواد همانند آنزیم ها، که در داخل موجود زنده تولید می شود.

همچنین، واژه اتولیز یا خودهضمی "digestion-Self"، گوارش خود به خودی، فساد خود به خودی نیز نامیده می شود. واژه "اتولیز"

در کشاورزی، جنگلداری و شیلات به صورت "Autodigestion" و به معنی کاهش مقدار زیست توده در نتیجه سوخت و ساز مواد در

درون باخته یا مواد ذخیره نیز مورد استفاده قرار می گیرد.

⁵ *Aspergillus oryzae*

⁶ Japanese sake

⁷ I used my *bero-meter*, *bero* meaning tongue in Japanese.

⁸ Cultivation flask

⁹ M: old

¹⁰ Vivid pictures

¹¹ *Bacillus circulans*

¹² Endo-1,3- β -glucanase

¹³ *Nature*

3-ا و 3-ب تا-گلوکاناز را در محیط کشت های متعدد که حاوی عناصر غذایی مختلف بود، آزمایش نمودم. افزایش 0/5٪ بی کرینات سدیم به محیط کشت مایع غنی شده متداول¹⁴، رشد خوب و تولید آنزیم را باعث گردید. هضم خودبه خودی آسپر جیلوس اوریزه شرایط محیط کشت را از اسیدی ضعیف به اسیدیته قلیایی تغییر دهد. در طی این مطالعه من کشف نمودم که یک چنین تغییری در مقدار اسیدیته، رشد باکتریایی و تولید آنزیم را تشدید نموده است (قسمت C از بخش 4-1-1 فصل چهارم را ملاحظه فرمایید).

در سال 1968، من به شهر فلورانس در کشور ایتالیا سفر کردم و ساختمان های مقاومی را که با معماری ژاپنی بسیار متفاوت بودند، مشاهده نمودم. قرن ها قبل از آن هیچ ژاپنی نمی توانست این فرهنگ رنسانس را تصور نماید. ناگهان، صدایی در گوشم زمزمه نمود، "جهانی جدید و دست نخورده از ریزجانداران در محیط کشت های مختلف می تواند وجود داشته باشد." خاطرات آزمایش های انجام شده بر باسیلوس سیرکولانس در سال های گذشته برای یک لحظه از ذهنم گذشت. آیا امکان دارد که یک قلمرو کاملاً ناشناخته از ریزجانداران در اسیدیته قلیایی وجود داشته باشد؟ همواره محیط اسیدی مورد مطالعه قرار گرفته است، احتمالاً به این علت که اکثر مواد غذایی اسیدی است، بنابراین "بیت" بسیار اندکی در قلمرو قلیانیت انجام شده بود. به محض بازگشت من به ژاپن، محیط کشتی حاوی 1٪ ربنات سدیم آماده نمودم. مقدار اندکی خاک جمع آوری شده از مناطق مختلف موسسه تحقیقاتی فیزیک و شیمی (RIKEN) هاکو ژاپن¹⁵ را درون سی لوله آزمایش قرار دادم و شبانه آنها را در دمای 37 درجه سلسیوس انکوباسیون کردم. با آن تعجب، ریزجانداران در تمامی لوله های آزمایش رشد نمودند. من تعداد بیشمار ریزجاندار قلیا پسند را جداسازی و بسیاری از آنزیم های قلیایی را خالص سازی نمودم. اولین مقاله علمی در ارتباط با پروتئاز قلیایی در سال 1971¹⁶ منتشر گردید.

هنگامیکه در سال 1972، من در حال صحبت با پدر زنم، شیجیو هامادا¹⁴، درباره ریزجانداران قلیا پسند بودم (وی نزدیک به یک قرن به عنوان تاجر در صن زنی بوده و در مورد همه چیز کنجکاو بود. او به قلیا پسندها ابراز علاقه نمود. این ریزجانداران بی نظیر بودند، به قلیانیت¹⁷ نیاز داشتند و می توانستند آنزیم های قلیایی همانند پروتئاز قلیایی، آمیلاز قلیایی و غیره تولید نمایند). همان لوله من در حال صحبت بودم، وی گفت "کوکی، یک لحظه صبر کن، من یک هدیه جالب توجه برای شما دارم." وی یک "رقه روزنامه قدیمی، نیکی شیمبون"¹⁸ مورخ یازدهم ژوئن 1958 را آورد. یک ستون کوچک با یک تصویر میکروسکوپی الکترونی که مانند یک ضربه بر سر من بود، من این را نمی دانستم! مقاله اظهار می نمود که:

"در ژاپن، از زمان های قدیم، رنگ نیلی¹⁹ به طور طبیعی در حضور کرینات سدیم²⁰ می سده است. رنگ نیلی از برگ های نیلی رنگ²¹ بوسیله باکتری هایی که تحت شرایط قلیایی بالا رشد می نمایند، استخراج و احیا شود. احیای نیلی²² تنها بوسیله مهارت فرد استادکار می تواند کنترل شود. تاکاهارا و همکارانش باکتری احیا کننده²³، رنگ نیلی را از یک گلوله نیلی²⁴ رنگ جداسازی نمودند."

¹⁴ Conventional nutrient culture broth

¹⁵ Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN), Wako, Japan

¹⁶ Shigeo Hamada

¹⁷ Nikkei Shimbun dated June 11, 1958

¹⁸ Indigo

¹⁹ Indigo leaves رنگ نیلی یک ترکیب آبی به یک رنگ مشخص آبی است. از لحاظ تاریخی، رنگ طبیعی نیلی از گیاهان استخراج می شده است و این فرآیند به لحاظ اقتصادی بسیار مهم بوده؛ زیرا این رنگ آبی بسیار نادر بوده است. تقریباً تمام رنگ نیلی امروزی (چند هزار تن در سال) مصنوعی است. این نوع رنگ آبی در سلول های جین آبی رنگ وجود دارد.

²⁰ Indigo reduction

²¹ Takahara and his colleagues

²² A ball of indigo

پس از آن من با دقت مقالات علمی از خلاصه مقالات شیمی²³ در کتابخانه RIKEN را بررسی کردم و فقط شانزده مقاله علمی در ارتباط با قلیا پسندها پیدا نمودم²⁴. مجموعه مطالعات در زمینه قلیا پسندها چیزی بیش از یک کنجکاوی بیولوژیکی نبود و هیچ گونه کاربردی در صنعت تا قبل از سال 1968 نداشتند. من این ریزجاندانان را که به خوبی در محیط قلیایی رشد می نمایند "قلیا پسند" نامیدم و مطالعات منظم میکروبی فیزیولوژیکی بر روی آنها را هدایت نمودم. بسیار جالب بود که این ریزجاندانان که کاملاً از آنچه قبل از این گزارش شده بود متفاوت بودند، به طور وسیعی در سرتاسر کره خاکی وجود داشته (حتی در عمیق ترین نقطه گودال ماریانا در اقیانوس آرام) و تولید کننده موادی که بیش از این در دسترس نبود، بودند. اینجا قلمروی جدید قلیایی که کاملاً از قلمرو خنثی متفاوت بود، وجود داشت.

در سه دهه اخیر من و همکارانم بر آنزیم شناسی، فیزیولوژی، اکولوژی، طبقه بندی، بیولوژی ملکولی و ژنتیک ریزجاندانان قلیا پسند برای ایجاد یک میکروبیولوژی جدید از ریزجاندانان قلیا پسند متمرکز شدیم. یک سوال بزرگ مطرح می شد، "چرا ریزجاندانان قلیا پسند به محیط قلیایی نیازمندند؟" سطح سلول قلیا پسندها می تواند مقادیر اسیدیته داخلی سلولی را در حدود $pH = 7$ تا 8 در محیط های قلیایی با $pH = 10$ تا 13 نگهداری نماید. چگونگی نگهداری محلول اسیدیته²⁵ یکی از جذاب ترین جنبه های قلیا پسندها است. برای درک این سوال ساده لیکن سخت، ما چندین آزمایش اولیه را برای ایجاد سیستم های نو ترکیب ژنی²⁶ انجام دادیم. سرانجام پس از گذشت حدوداً دو سال، تمامی توالی ژن باکتری قلیا پسند باسیلوس هالودورانس C-125²⁷ شناسایی گردید. این دومین توالی ژنی کامل از باکتری های تولید کننده سر بود که تاکنون گزارش شده است. این تلاش های پیاپی نتایج جالب توجهی را آشکار نمود. بسیاری از ژن ها در همان سر از سلسله مراتب²⁸ از جنس های مختلف و گونه های متفاوت به خوبی منتقل شدند. قطعات کوچک از ژن های آنزیمی در جهات مختلف قرار داده شد یا بوسیله قطعات درنهدنی (الحاقی)²⁹ جدا گردیدند. بنابراین، این باکتری مانند سنتز برخی از آنزیم ها را تولید نمایند. اگر چه، ما هنوز ژن یا ژن های قاطع مسئول برای قلیا پسندی را به معنای حقیقی نیافته ایم. نتایج ما نشان می دهد که بسیاری از فرآورده

²³ Chemical Abstracts

²⁴ Johnson, 1928; Downie and Cruickshank, 1928; Vedder, 1934; Jenkin, 1936; Bornside and Kallio, 1956; Chesbro and Evans, 1959; Kusumoto et al., 1959; Lisson, 1959; Takahara and Tanabe 1960; Chisleu and Kushner, 1961; Shislett and Kushner, 1961b; Takahara et al., 1961; Takahara and Tanabe, 1962; Wiley and Stokes, 1962; Wiley and Stokes, 1966; Barghoorn and Tyler, 1965; Siegel and Giumarro, 1966.

²⁵ pH homeostasis

²⁶ Gene recombination systems نو ترکیبی ژنتیکی فرآیندی است که طی آن مرسوم ها با استفاده از تکنیک شکسته شده و به شکل های مختلف به یکدیگر متصل می شوند. این عمل در بیشتر مواقع مربوط به DNA و گاهی در K^{+} دیده می شود. نو ترکیبی می تواند بین کروموزوم های (فام تن های) هم ساخت (همولوگ) باشد که به آن نو ترکیبی هم ساخت گفته می رود. گاهی نیز بین کروموزوم های مختلف رخ دهد. نو ترکیبی به طور معمول روشی برای ترمیم DNA پروکاریوت ها (پیش هسته ای ها) به کار می رود. در یوکاریوت ها در میوز رخ داده و به آن فرآیند کراسینگ اوور (چلیپایی) می گویند. در طی آن جابه جایی کروموزوم های پدر و مادری رخ می دهد و می تواند سبب تولید آلل های (دگره های) جدید شود. در سیستم ایمنی این فرآیند نقش بسیار مهمی را ایفا می کند و سبب مقاومت بدن در مقابل بیماری زهای مختلف می شود. در مهندسی ژنتیک فرآیند نو ترکیبی بسیار پرکاربرد است، به وسیله آن می توان ژنوم موجودات مختلف را به موجودی دیگر وارد کرد. به طوری که یک قطعه ژن هدف را می توان حذف یا اضافه کرد. در داروسازی از این روش استفاده کرده و بسیاری از ژن ها را دچار تغییر می کنند. به این منظور در علم مهندسی پروتئین ها سبب تغییر در پروتئین ها می شوند. نو ترکیبی غیر هم ساخت زمانی صورت می گیرد که تبادل قطعات بین توالی هایی بدون هم ساخت صورت گیرد. برای نو ترکیبی در موجودات مختلف آنزیم های (زیمایه های) مختلف به کار می رود. در پروکاریوت ها آنزیم RecA در نو ترکیبی یا شکست دورشته ای نقش دارد در مخمر و دیگر یوکاریوت ها دو نو ترکیب ساز برای شکست های دورشته ای نیاز است یکی 51RAD که هم در میوز و هم در میوز نقش دارد و دیگری DMC1 که تنها در میوز این عمل را به انجام می رساند.

²⁷ *Bacillus halodurans* C-125

²⁸ Horizontally

²⁹ Insertion در علم ژنتیک به افزایش یک یا تعداد پیوستری نوکلئوتید به یک کروموزوم به عنوان مثال با جهش، اطلاق می شود.

های ژنی به صورت اثرات متقابل مثبت با یکدیگر^{۳۰} همکاری می نمایند و قلیایسندی (یا سازگاری به محیط های قلیایی) را نشان می دهند.

کاربردهای صنعتی این ریزجانداران به صورت گسترده مورد بررسی قرار گرفته و برخی آنزیم ها همانند پروتئازهای قلیایی، آمیلازهای قلیایی، سلولازهای قلیایی و زایلانازهای قلیایی برای استفاده در مقیاس صنعتی به کار گرفته شده است. پس از آن، بسیاری از میکروبیولوژیست ها تعداد بیشماری مقاله علمی در ارتباط با ریزجانداران قلیایسند در زمینه های مختلف منتشر نموده اند. در ابتدای مطالعات ما، تعداد اندکی مقاله علمی وجود داشت، اما اکنون هزاران مقاله علمی و اختراع ثبت شده منتشر گردیده است. روشن نیست که در آینده تمرکز بر کدام زمینه از مطالعه ما بر قلیایسندها خواهد بود، اما نویسنده متقاعد شده است که قلیایسندها اطلاعات بسیار مهمی را فراهم خواهند نمود. در پایان، نویسنده از همسرش ساجیکو^{۳۱} برای کمک های ارزشمند وی در طول چهل سال گذشته، صادقانه قدردانی می نماید.

توکيو، ژاپن

آوریل 2006

www.ketab.ir

³⁰ Synergistically

³¹ Sachiko