

### نانو ماشین باکتریایی: اینجکتیزوم تیپ III

اسماعیل صابری<sup>۱</sup>، تاسر صفایی<sup>۲\*</sup>، کبری مسلم خانی<sup>۲</sup>

۱ دانشجوی دکتری و دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲ عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال

#### چکیده

بسیاری از باکتری‌های گرم منفی ارتباط بین سلسله ای (پروکاریوت-یوکاریوت) را با فرستادن پروتئین‌های خود بطور مستقیم به سیتوپلاسم یوکاریوتی میزبان خود از طریق یک مجموعه پیچیده ترشچی به نام سیستم ترشچی تیپ III (type III secretion system) یا اینجکتیزوم تیپ III (T3SS) یا اینجکتیزوم تیپ III (type III secretion injectisome) آغاز می‌کنند. اینجکتیزوم نانو ماشین ملکولی است که به متابه سرنگی برای تزریق پروتئین‌ها بکار گرفته می‌شوند. این سیستم در پرآزاری بسیاری از باکتری‌های گرم منفی نقش اساسی دارند و از آن برای انتقال افکتورهای پروتئینی برای برهم زدن فرآیندهای سلولی میزبان خود استفاده می‌کنند مورفولوژی کلی دو مجموعه فرا ملکولی (تازک و اینجکتیزوم) بسیار مشابه است و هر کدام شامل ساختارهای حلقه مانند در غشاء داخلی و بیرونی باکتریایی و یک AT-Pase مرتبط با غشاء و یک ساختار مارپیچی بیرون سلولی می‌باشند. اگرچه به جای قلاب و رشته مارپیچی تازک، اینجکتیزوم دارای یک سوزن (needle) مستقیم و سفت تو خالی یا یک رشته (filament) یا یک پیلوس (pilus) بسته به نوع اینجکتیزوم در انتهای ساختار آن می‌باشد. بیش از ۲۰ جزء پروتئینی برای عملکرد متناسب اینجکتیزوم مورد نیاز است. بیش از نیمی از این اجزاء محافظت شده هستند و به لحاظ توالی و عملکرد همولوگ همتای اجزاء تازکی می‌باشند. این مقاله مروری است بر یافته‌ها انجام شده در خصوص ساختار اینجکتیزوم، بخصوص ساختار و عملکرد ملکولی اجزاء آن می‌پردازد.

#### کلمات کلیدی:

سیستم تیپ ترشچی III، نانو ماشین باکتریایی، اینجکتیزوم - T3SS

#### مقدمه

بکار می‌روند (۲۱). یک موضوع و مقوله متداول در تحقیقات بیماری‌زایی مدرن این است که بیماری‌گر پروکاریوتی و میزبان یوکاریوتی آن درگیر یک ارتباطات ملکولی پیچیده هستند که اغلب برآیند آن نتیجه یک آلودگی را تعیین می‌کند. بسیاری از باکتری‌های بیماری‌گر گرم منفی این ارتباط بین سلسله‌ای پروکاریوتی و یوکاریوتی را با فرستادن پروتئین‌های خود بطور مستقیم به سیتوپلاسم میزبان یوکاریوتی خود از طریق سیستم ترشچی یتم سیستم ترشچی تیپ III (T3SS) اینجکتیزوم تیپ III آغاز می‌کنند (۲۶، ۱۹، ۲۸، ۷). امروزه پروتئین‌هایی که توسط T3SS منتقل می‌گردند (در گونه‌های بیماری‌زا) به عنوان

انتقال پروتئین از عرض غشاء بیولوژیکی یک بخش اساسی از زندگی سلول است. انتقال پروتئین توسط ساختارهای انجام می‌شود که در دیواره سلولی باکتری قرار گرفته‌اند. این سیستم‌های انتقال پروتئین، برای انتقال پروتئین به سطح بیرونی (اتصال به سطح خارجی) سلول باکتری یا به داخل محیط خارجی یا در مواردی حتی مستقیماً به داخل سیتوپلاسم سلول یوکاریوتی

آدرس نویسنده مسئول: الوان تهران-کرج، کیلومتر ۱۷، بعد از پلکان شهر، بلوار پژوهش، دانشکده کشاورزی

Email: nsafaie@modares.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱۲/۱

تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۱۵

افکتور شناخته می شوند (۳۸). افکتورهای منتقل شده قادر به بر هم زدن فرآیندهای یوکاریوتی می باشند که بدیتوسیله بیمارگر را قادر می سازد تا به طور مستقیم محیط میزبان متناظر خود را برای بیماریزایی بعدی تنظیم کند (۱۹، ۲۸) اگرچه انواع افکتورهای منتقل شده بین گونه های مختلف بسیار متفاوت است ماشین ملکولی که برای این فرآیند انتقال بکار می رود یعنی T3SS از لحاظ ساختاری و عملکردی محافظت شده است (۴۰، ۱۵).

بنابراین ایتجکتیزوم ناوماشین ملکولی است که به مشابه سرنگی برای تزریق پروتئین ها توسط بسیاری از باکتری های گرم منفی پاتوژن گیاهی، جانوری به داخل سلول میزبان بکار می رود. اگرچه در تعدادی از باکتری ها این سیستم توسط بعضی از باکتری های همزیست و همراه با گیاه مثل *Rhizobium* و *Pseudomonas fluorescens* جهت اهداف همزیستی یا زندگی ای فیتی بکار گرفته می شود (۳۹، ۲۲). این سیستم در ویروئاس بسیاری از باکتری ها پاتوژن همانند *Yersinia*، *Salmonella*، *Shigella* و *Erwinia Xanthomonas* و *Raisto-nia* اهمیت دارند (۲۴، ۳۹) در واقع بسیاری از پاتوژن های گیاهی و جانوری از این بیمارگرهای گیاهی و جانوری از این سیستم برای از بین بردن و کشته کردن موجودات میزبان خود استفاده می کنند T3SS پروتئین های افکتور را به طور مستقیم به داخل سلول های یوکاریوت تزریق می کند و بدیتوسیله امکان دستکاری فعالیت های سلولی به نفع میزبان را فراهم می کند (۳۹). همانند بعضی دیگر از سیستم های ترشچی این دستگاه ترشچی از داخل دو غشاء پل می زند و تشکیل یک کانال پیوسته از محیط سیتوزول تا محیط خارج سلولی را می دهد در واقع ایتجکتیزوم یک مسیر مستقیم پیوسته ای را برای انتقال افکتورها از سیتوپلاسم باکتری به داخل سیتوزول میزبان فراهم می کند. بیش از ۲۰ جزء پروتئینی متحصر به فرد که بسیاری از آنها به لحاظ توالی یکسانی بالای را در بین گونه ها دارند. برای عملکرد مناسب مورد نیاز است. اغلب این پروتئین ها در ایجاد یک مجموعه ماکروملکولی شرکت دارند که از غشاء داخلی، فضای پری پلاسمی، لایه پپتید و گلیکان، غشاء بیرونی فضای خارج سلولی و غشاء سلولی میزبان پل می زنند (۴۰).

سیستم ترشچی تیپ III برای اولین بار توسط گروه گای کورنلی در مطالعه باکتری های بیمارگر جانوری در اوایل دهه ۱۹۹۰ کشف شد (۳۰). مدت کوتاهی بعد از آن، مکانیسم ترشچی مشابه آن در بسیاری از باکتری های گرم منفی جانوری و گیاهی یافت شد (۴). جتس اگر باکتریوم تنها جتسی از باکتری های گرم منفی بیماریزا است که در آن این سیستم دیده نشده است. سیستم ترشچی T3SS به لحاظ تعداد پروتئین های تشکیل دهنده دستگاه ترشچی به عنوان پیچیده ترین سیستم ترشچی پروتئین محسوب می گردد. این سیستم به سبب چندین ویژگی از سیستم های ترشچی دیگر متمایز می گردد؛ بر خلاف سیستم های وابسته به Sec که دارای سیگنال پپتیدی قابل برش می باشند در این سیستم سیگنال ترشچی انتهایی دیده نمی شود. دومین تفاوت این سیستم ضرورت چاپرون های اختصاصی برای ترشح بسیاری از افکتورها می باشد. سومین خصوصیت و تفاوت آنها وجود دو بخش، قاعده ای سیتلدتری که از تمام پوشش سلولی عبور می کند و زائده رشته ای خارج سلولی که در بیمارگرهای جانوری سوزن و در بیمارگرهای گیاهی پیلوس نامیده می شود. T3SS به لحاظ مورفولوژی و ژنتیکی شبیه تازک باکتریایی است اما بر خلاف تازک، زائده رشته ای به جای شرکت در عمل حرکت باکتریایی، تماس با میزبان را تسهیل می کند (۲۰).

### ساختار و عملکرد ایتجکتیزوم

ایتجکتیزوم و تازک به لحاظ ساختاری و عملکردی ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند (۲۳، ۱۵) ساختار تازک از سه بخش: ۱) جسمک قاعده ای یا یک دستگاه ارسال در داخل حلقه های غشاء داخلی، ۲) یک قلاب انعطاف پذیر که به عنوان یک زانو (مقصل رابط) عمل می کند و ۳) یک رشته محکم تشکیل شده اند. ساختار ایتجکتیزوم را هم می توان به سه بخش عمده تقسیم کرد: ۱) جسمک قاعده ای یا دستگاه ارسال در داخل حلقه های غشاء داخلی، ۲) یک سوزن مستقیم که به سیستم ترشچی متصل است، ۳) مجموعه ترانس لوکون که تشکیل یک متفرد در غشاء سلول میزبان یوکاریوتی می دهد. اگر چه به جای قلاب و رشته مارپیچی تازک، ایتجکتیزوم معمولاً دارای سوزن مستقیم و کوتاه می باشد. علاوه بر شباهت ساختاری به

معدودی از پروتئین ها از صدها پروتئین موجود در سلول باکتری منتقل می گردند در واقع غربالگری شدیدی برای سویستراهای که باید منتقل شوند وجود دارد (۱۵). برخلاف تصور گذشته که تصور می شد، ایتجکتیزوم به لحاظ تکاملی قدمتی برابر قدمت تازک دارد. در واقع هر دو آنها باستانی هستند و جد مشترک دارند اخیراً مطالعات جامع فیلوژنی نشان داد ایتجکتیزوم از تازک متشاه گرفته اند (۲)

### ساختمان اینجکتیزوم

معماری کلی اینجکتیزوم های مختلف محافظت شده است (۶،۴۰). و شامل یک ساختار ماریپیچی و توسعه یافته محکم (سوزن) که به یک پایه سیلندری که از غشای داخلی و خارجی و فضای پری پلاسمی می گذرد، متصل شده، می باشد (شکل ۱). قسمت پایه سیلندری مشابه جسمک قاعده ای تازک می باشد. این قسمت از دو جفت حلقه تشکیل شده که از غشای درونی و بیرونی باکتری عبور (پل می زند) می کند. این کشف در خصوص ساختار با مشاهدات قبلی که بیانگر ارسال پروتئین های افکتور از عرض غشای باکتری و انتقال از عرض غشای یوکاریوتی در یک فرآیند یک مرحله ای بود، همخوانی دارد (۱۲). با تهیه تصاویر با کیفیت بالا مشخص شد که یک کانال مرکزی به قطر ۲۰-۳۰ نانگستروم از پایین حلقه ها تا نوک سوزن امتداد دارد (۴۰). این مشاهدات بیانگر این موضوع است که اگرچه T3SS یک گذرگاه ملکولی برای انتقال پروتئیتی ایجاد می کند با این وجود این گذرگاه برای عبور اکثر پروتئین های کروی از طریق آن بسیار باریک است بنابراین لازم است افکتور ها قبل از انتقال به طور جزئی یا کامل به حالت تا نخورده در بیایند (۴۰). تقریباً ۲۵ پروتئین برای ساختن ایتجکتیزوم مورد نیاز است بیشتر این پروتئین ها اجزاء ساختاری هستند اما بعضی دیگر اجزاء کمکی هستند که تنها در طول فرآیند مونتاژ شرکت دارند و سپس جدا می گردند (مانند ملکول های خط کشی) و یا در سیتوزول نگه داشته می شوند (برای مثال چاپرون ها). پروتئین های مرکزی ایتجکتیزوم که توالی شان محافظت شده است بیش از نه پروتئین نیستند. در ایتجکتیزوم هایی که توسط بیمارگر گیاهی کد می شوند این پروتئین ها محافظت شده Hrc نامیده می شوند این پروتئین ها شامل هشت پروتئین هستند که با

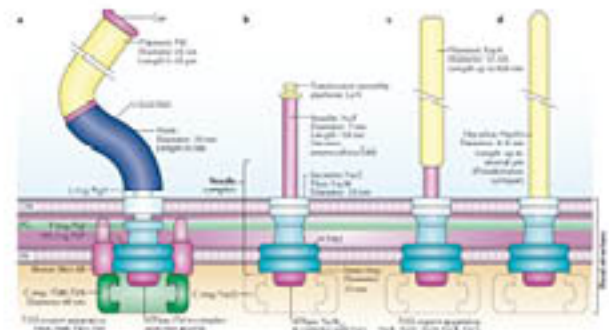
لحاظ ترکیب پروتئیتی تشکیل دهنده نیز به شدت محافظت شده هستند (شکل ۱ و ۲) (۱۵). اغلب اجزاء هم در تازک و هم در ایتجکتیزوم محافظت شده هستند و بسیاری از پروتئین ها به لحاظ توالی و عملکرد همولوگ هستند و تقریباً از کل ۲۰ پروتئیتی که برای تشکیل جسمک قاعده ای تازک ضروری است حدود نصف آنها دارای همتای خود در ایتجکتیزوم هستند (۱۵). مورفولوژی کلی دو کمپلکس فرا ملکولی (تازک و ایتجکتیزوم) بسیار مشابه است و هر کدام شامل ساختارهای حلقه مانند در غشای داخلی و بیرون و یک ATPase مرتبط با غشای و یک ساختار ماریپیچی بیرون سلولی می باشند (شکل ۲). در واقع تازک یک نانومانیستی ملکولی پیچیده ای است که از تقریباً ۲۵ پروتئین متفاوت تشکیل شده است (۱۵، ۲۳). تازک باکتریایی دارای دو عملکرد عمده است. اول اینکه به عنوان یک سیستم ترشعی برای انتقال اجزاء ساختاری مورد نیاز برای ساخت ساختار خارج سلولی در طول فرآیند مونتاژ تازک عمل می کند و دوم، همچنین به عنوان یک موتور برای حرکت (شتا) در محیط اطراف عمل می کند (۱۵، ۲۳، ۴۰). ایتجکتیزوم نیز اجزاء ساختاری خارج سلولی (متفد انتقال و سوزن) را در طول فرآیند مونتاژ انتقال می دهد (۴۰) علاوه بر این بعد از کامل شدن مونتاژ، T3SS پروتئین های باکتریایی را به طور مستقیم به داخل سیتوپلاسم میزبان منتقل می کند فرآیند ای که نیازمند گسترش سوزن و یک متفد انتقال یا ترانس لوکان می باشد (شکل ۱) (۴۰). در واقع این دو نانوماشین متفاوت از روش مشابه برای انتقال پروتئین بهره می گیرند (۵،۳۹). بنابراین T3SS، یک مسیر انتقال پروتئین یا سیستم ترشعی اختصاصی پروتئین است که توسط دونانو ماشین متفاوت استفاده می گردد اگر چه اصطلاح T3SS یا ایتجکتیزوم اغلب به سیستم مورد استفاده برای ترشح یا انتقال پروتئین افکتور در زمینه تعامل یک میزبان - میکروارگانسیم نسبت داده می شود (۷،۳۹). دونانو ماشین مذکور از این لحاظ که اغلب اجزاء خارج سلولی آنها توسط T3SS فرستاده می شوند مشابه هم هستند. یک خصوصیت مشترک همه T3SS (هم تازک و هم ایتجکتیزوم) عملکرد خیلی سریع آنها می باشد در خصوص T3SS تازکی تقریباً ۲۰ ملکول ۵۵ کیلو دالتونی فلاژلین در هر ثانیه در مرحله مونتاژ تازک منتقل می گردد و تنها



تازک باکتریایی مشترک هستند و یک پروتئین از خانواده سکرترین می باشند.

## ۱- ساختمان جسمک قاعده ای

ساختار قاعده ای ایتجکتیزوم T3SS، یک جفت حلقه در غشاء داخلی و بیرونی و میله می باشد (۱۵). قسمت مرکزی حلقه های داخلی جسمک قاعده ای، شامل مجموعه ای از پروتئین ها است که تشکیل دستگاه ارسال می دهند (۳۹). علی رغم اندازه جسمک قاعده ای تنها از سه پروتئین عمده تشکیل شده که به صورت یک مجموعه از حلقه های متحدالمرکز الیگومری سازماندهی می شوند. دو پروتئین در غشاء داخلی باکتری و پروتئین سوم در غشاء بیرونی قرار دارند (۳۹). بر اساس اندازه نسبتا کوچک این پروتئین ها (همه آنها کمتر از ۷۰ دالتون هستند) و اندازه بزرگ ساختار جسمک قاعده ای (بیش از ۳۰۰ انگستروم) این پروتئین ها باید الیگومرهای متفاوتی را تشکیل دهند مشاهده یا میکروسکوپ الکترونی نیز این موضوع را تایید می کند و مشخص شد که جسمک قاعده ای دارای ساختار حلقه مانند می باشد و دارای تقارن شعاعی بسیار منظمی است (۱۳).



شکل ۱. تصویر شماتیکی ایتجکتیزوم (در باکتری *Salmonei* (A)؛ ساختار ایتجکتیزوم از سه بخش عمده تشکیل شده است: ۱. جسمک قاعده ای با دستگاه ارسال (- export apparatus) در داخل ریتگ های غشاء داخلی ۲. یک سوزن مستقیم (بطور معمول) که به سیستم ترشچی متصل است ۳. کمپلکس ترانسی لوکون (translocon) که تشکیل یک متقد در غشاء سلول میزبان یوکاریوتی می دهند. جعبه های خط چین شده بیانگر پروتئین های است که به عنوان دستگاه ارسال (export apparatus) عمل می کند. om: غشاء، بیرونی؛ PG: پپتیدوگلیکان؛ IM: غشاء داخلی (بر گرفته از ۱۵). تصویر سه بعدی حاصل

از مطالعات میکروسکوپ الکترونی شباهت ساختاری جسمک قاعده ای تازک و ایتجکتیزوم را نشان می دهد. تفاوت عمده این دو قطر حلقه سیئوپلاسمی جسمک قاعده ای تازک که بطور قابل توجهی (حدودا ۴۰ نانومتر) در مقایسه با حلقه ایتجکتیزوم (حدود ۲۰ نانومتر) عریض تر است و فقدان ساختار شبه حلقه C در ایتجکتیزوم می باشد. در مجموع جسمک قاعده ای در ایتجکتیزوم از سه بخش عمده: کمپلکس (یا حلقه) غشاء بیرونی، کمپلکس (یا حلقه) غشاء داخلی و شبه حلقه C تشکیل شده است (۱۲، ۱۵).

### ۱- الف - کمپلکس حلقه غشاء بیرونی

جفت حلقه های بیرونی با غشاء بیرونی و لایه پپتیدوگلیکان مرتبط است (۱۲، ۱۵). ساختار و تشکیلات (آرایش) حلقه غشاء بیرونی به دلیل اینکه این ساختار تنها از یک جزء پروتئینی عمده تشکیل شده، ساده است. این جزء پروتئینی، سکرترین (از خانواده پروتئینی YscC) می باشد (۱۲، ۴۰). سکرترین ها خانواده پروتئینی بزرگی هستند که اعضاء آن گسترش وسیعی در بین گونه های باکتری های گرم منفی دارند. آن ها علاوه بر T3SS در فرایند انتقال ماکرومولکول های متعددی شامل سیستم ترشچی تیپ II، تشکیل پیلوس تیپ ترشچی IV و آزاد سازی فازه های رشته ای شرکت دارند (۱۲). در واقع سکرترین ها ساختار حلقه ای مولتی مری را در غشاء بیرونی در سیستم های مختلف ترشچی II، IV تشکیل می دهند. سکرترین ها به لحاظ توالی و همچنین ساختاری هیچ گونه شباهت با هیچ یک از اجزاء غشاء بیرونی سیستم تازکی ندارند در واقع آن ها تنها ترکیب عمده T3SS می باشد که هیچ همولوگ تازکی ندارند (۳۸، ۴۰). مطالعه و آنالیز ساختار و تشکیل کانال سکرترین ها متعدد با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که مونومرهای پروتئینی به صورت یک الیگومر حلقه مانند مشکل از ۱۲ - ۱۴ زیر واحد مجتمع می گردند در واقع این پروتئین تشکیل یک کمپلکس مولتی مری حلقه ای شکل می دهد که در غشاء بیرونی لنگر می اندازد (۵). این ساختار حلقه مانند تشکیل یک کانال مرکزی به قطر ۱۵ - ۱۰ نانومتری می دهد. تشکیل حلقه سکرترین با سترز پروتئین در سیئوپلاسم باکتری و ارسال هر یک از مونومرها به پری پلاسم توسط

### 1- ج - حلقه سیتوپلاسمی یا حلقه C

یک بخشی عمده دیگر از جسمک قاعده‌ای تازک که در غشاء داخلی مونتاژ می‌گردد، حلقه سیتوپلاسمی یا حلقه C می‌باشد که از دو جزء FliM و FliN تشکیل شده است. حلقه C در زیر حلقه MS تازک تشکیل می‌گردد (۱۲، ۲۳). برآمدگی یا تورم پیزی شکل سیتوپلاسمی مشاهده شده با میکروسکوب الکترونی در باکتری *Shigella* به عنوان آن‌لگ حلقه C در T3SS پیشنهاد شده است اما این ساختار در مطالعات میکروسکوب الکترونی به وضوح مشخص نشد در واقع تاکنون هیچ تصویر میکروسکوب الکترونی که بیانگر وجود حلقه C در ایتجکتیزوم باشد، مشاهده نشده است. اگر چه شواهد بیوشیمیایی دال بر وجود حلقه C در ایتجکتیزوم وجود دارد (۴۰). خانواده‌های پروتئینی YscQ (که بسیار محافظت شده هستند) از پروتئین‌های T3SS دارای همولوژی قابل توجهی در نواحی انتهایی کربوکسیلی با FliN و FliM تازکی هستند (۲۳) شواهد مطالعاتی بیانگر این موضوع است که این ساختار شبه C ممکن است به عنوان یک ملول اضافی دیگر در حد فاصل سیتوپلاسم و غشاء برای یکارگیری دیگر پروتئین‌ها شامل ATPase عمل می‌کند. در تازک نیز پروتئین FliN یک جزء اصلی حلقه C با FliH (تنظیم کننده ATPase) و کمپلکسی FliI (ATPase) تعامل می‌کند این یافته‌ها با حدس و گمان‌ها در خصوص عملکرد مشابه در پروتئینی خانواده YscQ همخوانی دارد (۱۶، ۲۳، ۴۰).

### 1- د - دستگاه ارسال

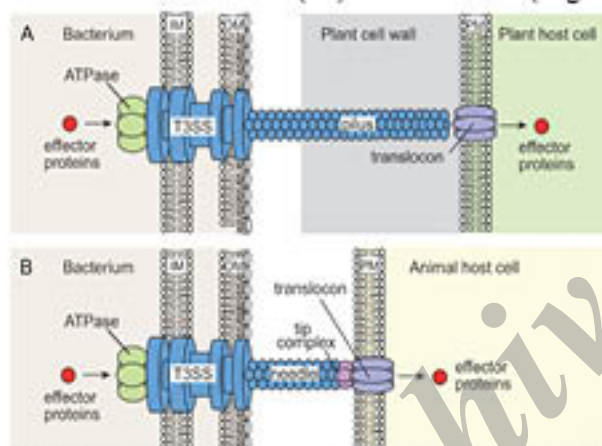
در قاعده جسمک قاعده ای هم تازک و هم ایتجکتیزوم دستگاه ارسال جای دارد و شامل پنج پروتئین (شش عدد در تازک: FliA, FliB, FliC, FliD, FliE, FliF, FliG, FliH, FliI, FliJ, FliK, FliL, FliM, FliN, FliO, FliP, FliQ, FliR, FliS, FliT, FliU, FliV, FliW, FliX, FliY, FliZ) متصل به غشاء (غشایی) و سه پروتئین (سه پروتئین تازکی متناظر شامل FliH, FliI, FliJ) مرتبط با غشای سیتوپلاسمی (پروتئین قابل حل) می‌باشد (شکل ۳) (۱۵، ۳۹). اجزاء غشایی در قسمت مرکزی حلقه های غشای داخلی در جسمک قاعده ای قرار دارند. FliI به همراه همودایمر FliH تشکیل یک هترومر در سیتوپلاسم می‌دهد، بعد از برقرار شدن ارتباط (فضای) با FliI اجزاء دستگاه ارسال، FliI تشکیل یک هگزامر عملگرا می‌دهد. انتقال پروتئین

مسیر وابسته به Sec شروع می‌گردد. بنابراین تاخوردن و وارد شدن به غشاء بیرونی مراحل مهم بعدی برای الیگومریزاسیون متاسب و تشکیل کانال در غشای بیرونی می‌باشد. این فرآیند توسط یک کلاس مخصوص از پروتئین‌ها که به نام پایلوتین‌ها شناخته می‌شوند، انجام می‌گیرد. پایلوتین‌ها لیپوپروتئین‌های کوچکی هستند که در غشاء بیرونی قرار می‌گیرند و به انتهای کربوکسیلی سکرترین‌های متناظر خود متصل می‌گردند (۴۰). در واقع همانند سکرترین‌های T3SS، بعضی از سکرترین‌های T3SS نیازمند یک لیپو پروتئین راهتما (یا کمکی) جهت نگهداری و محکم کردن خود (تثبیت) در غشاء بیرونی می‌باشند. از جمله پروتئین‌های کمکی می‌توان به InvH, MxiM, YscW و HrpI به ترتیب مربوط به باکتری‌های *Shigella*, *Yersinia* و *Salmonella*, *P. syringae* اشاره کرد. در واقع پیلوتین برای جایگزینی متاسب و مونتاژ سکرترین در غشاء بیرونی مورد نیاز است (۳۹). مطالعات نشان داد که موتاسیون در ژن *hrcC* (ژن کد کننده سکرترین در *P. syringae*) دارای نقص در تیپ ترشحی III هستند.

### 1- ب - مجموعه حلقه داخلی

حلقه داخلی که خود از دو مجموع تشکیل شده است از دو پروتئینی بزرگتر از مجموع سه پروتئین جسمک قاعده‌ای تشکیل شده است. این مجموع حلقه‌ها به نظر می‌رسد اولین ساختار الیگومری است که ساخته می‌شوند در واقع اولین مرحله مونتاژ در تازک و ایتجکتیزوم ساختار قاعده‌ای می‌باشد (۴۰، ۳۱). پروتئین‌های *prgK* و *prgH* پروتئین‌های تشکیل دهنده حلقه داخلی در باکتری *S. enterica* است که بیشترین مطالعات روی آن انجام گرفته است، می‌باشد (۱۲) این پروتئینی همولوگ پروتئینی حلقه MS (FliF) می‌باشد (۳۸). پروتئین *prgK* متعلق به خانواده پروتئینی بسیار محافظت شده YscJ از پروتئین‌های پری پلاسمی می‌باشد این پروتئین بتظر می‌رسد بوسیله یک لیپید به حاشیه بیرونی غشاء داخلی لتگر می‌اندازد. این پروتئین بعد از برش پپتید راهتما آن از طریق انتهای آمیتی و گاهی به وسیله یک دومین غشایی از انتهای کربوکسیلی از طریق پیوند کوالانسی به لیپید متصل می‌گردد (۱۳).

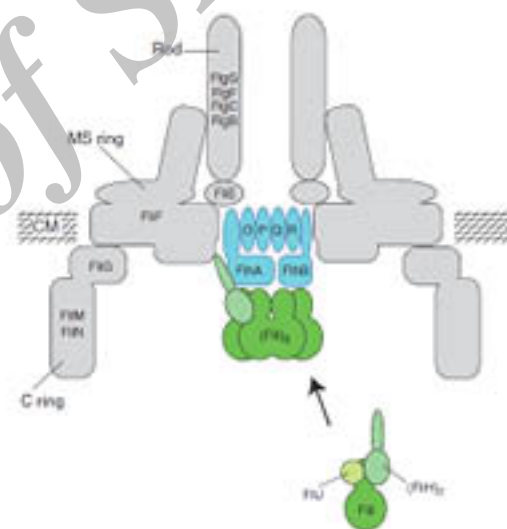
(C ring) یا خط چین نمایش داده شده است. چون اطلاعات در خصوص آن هنوز محدود است. IM غشاء داخلی؛ OM، غشاء بیرونی؛ PG، پپتید و گلیکان (بر گرفته از ۱۲) اجزا قابل حل غشاء (مرتبط با غشاء) شامل یک ATPase اختصاصی T3SS، تنظیم کننده ATPase و چاپرون T3SS می باشد. زیر واحد FliI (ATPase دستگاه ترشحی تازکی) موجب باز کردن تا خوردگی سوسترهای ترشحی قبل از ارسال و همچنین موجب رها شدن چاپرون های سیتوپلاسمی از مجموعه افکتور- چاپرون یا یک روش وابسته به ATP می گردد. (۳، ۱۵) در ایتجکتیزوم ها، پروتئین های خانواده YscN (InvC/YscN/Spa۴۷) زیر واحد ATPase می باشند (۱۵، ۳۹). زیر واحد ATPase یک الیگومر HrcN (ATPase باکتری -P. ۵۷) حالت هم برای FliI و هم در (ATPase باکتری -P. ۵۷) مشاهده شده است (۱۵).



شکل ۳. تصویر شماتیک دستگاه ارسال تیپ ترشحی III تازکی (flagel-).  
dar type III secretion apparatus.

پروتئین های FliA، FliB، FliO، FliP، FliQ، FliR، و FliI اجزا داخل غشایی دستگاه ارسال تازکی می باشند. این اجزا در یک داخل کانال مرکزی در حلقه MS مونتاژ می گردند. پروتئین های FliI (ATPase اختصاصی تازک)، FliH (تنظیم کننده FliI) و FliJ (یک چاپرون عمومی) اجزا قابل حل دستگاه ارسال می باشند. پروتئین FliI با همودایمر FliH تشکیل یک هترومر در سیتوپلاسم می دهد. FliI بعد از اتصال به اجزای دستگاه ارسال تیپ ترشحی III (T3S apparatus) تشکیل یک همگرا عملگرا می دهد. انتقال پروتئین به نیروی (PMF Proton Motive Force) وابسته است و سوسترها ترشحی بایستی برای انتقال

به نیروی جنبشی پروتون (PMF) وابسته است و سوسترها باید به حالت تا نخورده از طریق یک کانال نازک حدوداً به قطر ۲/۰ نانومتر منتقل شوند. بنظر می رسد FliI موجب تسهیل در عمل باز کردن تا خوردگی سوسترها در یک روش وابسته به ATP می گردد. اطلاعات کمی در خصوص عملکرد پروتئین های متصل به غشاء T3SS وجود دارد اگرچه اعتقاد بر این است که آنها با کمک دومین های سیتوپلاسمی Spas/YscU/Spa۴۰ (متناظر FliB) و InvA/YscN/Mxia (متناظر FliA) تشکیل کانال ارسال را می دهند و به عنوان یک دروازه ارسال (export gate)، ارسال از طریق کانال را کنترل می کنند (۳۹). پروتئین Spas/YscU/Spa ۴۰ (آنالوگ FliA) به عنوان بخشی از سوئیچ ملکولی عمل می کند که ترتیب زمانی ترشح اجزا دستگاه T3SS و همچنین فاکتورهای پرازایی را تنظیم می کند.



شکل ۲. ساختار تازک و ایتجکتیزوم. نمایش شماتیک تازک (a)، ایتجکتیزوم *Yersinia spp.* (b)، ایتجکتیزوم *Enteropathogen-* (c) و ایتجکتیزوم پاتوژن های گیاهی (d). مورفولوژی کلی دو کمپلکس فرا ملکولی (تازک و ایتجکتیزوم) بسیار مشابه است و هر کدام شامل ساختارهای رینگ مانند در غشاء داخلی و بیرونی باکتریایی و یک ATPase مرتبط با غشاء و یک ساختار ماریچی بیرون سلولی می باشند. اگرچه به جای فلاپ و رشته ماریچی تازک، ایتجکتیزوم دارای یک سوزن (needle) مستقیم و سفت تو خالی یا یک رشته (filament) یا یک پیلوس (pilus) بسته به گونه باکتریایی در انتهای ساختار ایتجکتیزوم می باشد. در ایتجکتیزوم ها حلقه C



(۱۲، ۱۵). سوزن از پلیمریزاسیون ماریپچی ۱۰۰ تا ۱۵۰ ملکول (زیر واحد) از خانواده YscF (PrgI/YscF/MxiH) ایجاد می گردد. در مقایسه با زیر واحدهای قلاب تازک، FlgE (۴۲ KD) و زیر واحد رشته تازک (۵۱ KD) پروتئین های سوزن نسبتاً کوچک هستند (۱۲، ۱۵، ۳۹). همانند رشته تازکی سوزن نیز دارای یک حفره داخلی به قطر تقریبی ۲۵ انگستروم می باشد که به عنوان یک مجرای (کانال) ملکولی برای انتقال پروتئین تیپ ترشحی III عمل می کند (۴۰). سوزن علاوه بر وجود یک کانال با ابعاد برابر (۱۶ انگستروم)، در پارامترهای ماریپج مانند ۵/۶ زیر واحد در هر چرخش، افزایش طول محور (۴/۲ واحد به ازای هر زیر واحد) و.. شباهت بالایی با قلاب و رشته تازکی دارد، که بیانگر شباهت ساختاری تازک و ایتجکتیزوم می باشد (۱۱، ۴۰). با مطالعه ساختار کریستالی مشخص شد که زیر واحد سوزن (MixH، در باکتری *Shigella*) شامل دو آلفا هلیکس خمیده ناهمسو می باشد که با یک پیچ کوتاه (PxxP turn) به هم متصل شده اند (۱۴). این ساختار مشابه با ساختار دومین D۰ فلاژلین و EspA (رجوع شود به بخش ۲-۲- الف) می باشد. یک پروتئین مرتبط با سوزن، پروتئین میله (inner rod protein) (PrgJ/Ysc/MxiI) در جسمک قاعده ای می باشد. PrgJ موجب امتداد سوزن از طریق یک کانال مرکزی از جسمک قاعده ای می گردد (۳۹). آنالیز توالی نشان داد که PrgJ یک پارالوگ زیر واحد سوزن می باشد (۳۹).

#### ۲-۲- الف - ملحقات متصل به سوزن

در چندین گونه مشخص شده است که سوزن با ساختارهای اضافی دیگر مرتبط است. این ملحقات به نوک سوزن متصل می گردند در اتصال سوزن به روزنه انتقال و ایجاد متفذ نقش دارند (شکل ۲) (۴۰، ۱۲).

#### ۲-۲- الف - کمپلکس راس سوزن

امروزه چندین ساختار از پروتئین های راس سوزن شناسایی شده است مانند پروتئین های LcrV (*Yersinia*)، EspA، EPEC، BipD (*Burkholderia*) و IpaD (*Shigella*) (۳۹). علی رغم تنوع ساختاری، همه پروتئین های راس سوزن دارای یک دومین حلقه-حلقه مرکزی مشترک می باشند که به لحاظ

از کانال نازک حدوداً به قطر ۲ نانومتر باید به حالت تانخورده در آیتد این عمل توسط FliI با یک روش وابسته به ATP انجام می گردد. CM، غشای سیتوپلاسمی (بر گرفته از ۱۵) مطالعات بیوشیمیایی روی HrcN (از خانواده YscN) باکتری *P. syringae* نشان داد که این پروتئین موجب هیدرولیز ATP می گردد. این پروتئین تشکیل هگزامر و دوکامرهای می دهد که با قسمت سیتوپلاسمی غشاء داخلی باکتری مرتبط هستند. الیگومریزاسیون موجب فعال شدن ATPase می گردد (۳۷). ساختار دودکامری HrcN تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی به صورت دو حلقه هگزامری است که روی هم قرار گرفتند. این ساختار قابل مقایسه با ATPase تازکی می باشد که تشکیل یک ساختار ریتیگی یا تقارن شش وجهی با قطر بیرونی تقریباً ۱۰ نانومتر و حفره مرکزی ۲۵ تا ۳۵ انگستروم می دهند (۱۵).

#### ۲- اجزای ساختار خارج سلولی ایتجکتیزوم

قسمت خارج سلولی را می توان به سه بخش عمده تقسیم کرد (شکل ۲) (۴۰).

#### ۱- سوزن

سوزن یک پلیمر ماریپچی است و از چند صد کپی از یک پروتئین از خانواده YscF ساخته شده است. ۲- زائده انتهایی سوزن : که از یک پروتئین که به لحاظ توالی در ایتجکتیزوم ها مختلف متفاوت است تشکیل شده است. این پروتئین بسته به گونه باکتری تشکیل کمپلکس انتهایی سوزن یا یک ساختار رشته ای می دهد. ۳- ترانسلوکان (یا متفذ انتقال) : که شامل دو پروتئین از خانواده YopB و YopD می باشد. هتروالیگومرهای این دو پروتئین تشکیل متفذ در غشای میزبان می دهد. این متفذ برای ورود افکتور به داخل سلول مورد نیاز است. همه این پروتئین ها توسط جسمک قاعده ای تازه تشکیل شده، که به عنوان یک ماشین ترشح عمل می کند به فضای خارج سلولی منتقل می گردد.

#### ۱-۲- سوزن

سوزن مشخص ترین جزء ایتجکتیزوم می باشد. سوزن ایتجکتیزوم یک لوله توخالی مستقیم به طول تقریبی ۶۰ نانومتر به قطر ۷ نانومتر با قطر داخلی ۲۵ انگستروم می باشد

۲-۳- پیلوس Hrp در ایتجکتیزوم بیمارگر های گیاهی یک ساختار طویل نازک که پیلوس Hrp نامیده می شود جایگزین سوزن می گردد (۱۲) (شکل ۲، ۴). در بیمارگر های گیاهی Hrp مهمترین زائده دستگاه T3SS می باشد. پیلوس Hrp موجب هدایت افکتورهای پروتئینی به سلول گیاهی می گردد (۳۸). پیلوس Hrp از سر هم شدن ماریجی چندین نسخه از پروتئین کوچک (۶ تا ۱۱ دالتونی)، HrpA در *P. syringae* و HrpY، *Erwinia amylovora* در *Ralstonia solanacearum* و HrpE در *Xanthomonas campestris* تشکیل شده است اگرچه ممکن است زیر واحد های کوچک اضافی دیگر هم وجود داشته باشد. بنابراین پروتئین HrpA جزء اصلی پیلوس Hrp را تشکیل می دهد (۳۸).

برخلاف جسمک قاعده ای ایتجکتیزوم که بین T3SS های مختلف محافظت شده است سوزن و پیلوس Hrp در T3SS ها بسیار متنوع است. این تنوع احتمالا به دلیل تفاوت میزبانی، محیط و نحوه آلودگی باکتری های مختلف می باشد در واقع این تفاوت های ساختاری به دلیل تفاوت در محدودیت های عملکردی که این نانو ماشین ها در موجودات میزبان خود با آن روبرو هستند، می باشد در واقع این تنوع به دلیل ضرورت میکائیکی به دلیل تنوع آلودگی می باشد. در روده سلول های EPEC از سلول های هدف (enterocyte) خود بوسیله یک لایه مخاطی جدا می گردند در حالیکه در بیمارگر های گیاهی باید افکتورهای خود را از عرض دیواره سلولی ضخیم عبور دهند (۱۲). علاوه بر این ملحقیات سوزن ممکن است به دلیل اینکه در تماس مستقیم با سلول میزبان هستند تنوع بیشتری بر آنها تحمیل گردد این تماس مستقیم موجب می گردد که پروتئین های پیلوس/سوزن بطور بالقوه مورد هدف پاسخ های دفاعی میزبان قرار گیرند. در واقع آنها تحت فشار انتخابی از طریق تکامل هماهنگ بیمارگر و میزبان هستند (۱۳).

#### ۲-۴ - منفذ انتقال (ترانس لوکان)

در بیرونی ترین بخش انتهایی ایتجکتیزوم ترانس لوکان یا منفذ انتقال قرار دارد. منفذ انتقال یک کمپلکس پروتئینی است که بطور مستقیم در داخل غشای سلولی میزبان یوکاریوتی تشکیل

توپولوژی مشابه پروتومر سوزن می باشد اما به لحاظ دومین های انتهایی و داخلی از یکدیگر متفاوت هستند که تصور می شود به دلیل عملکرد های متفاوت آنها باشد (۶). ساختمان کمپلکس سوزن با کلاهک رشته تازک قابل مقایسه است. کمپلکس راس سوزن همانند کلاهک رشته تازکی تشکیل یک ساختار ناقوسی پتنامری شکل (۳۹) در انتهای سوزن می دهد. (۳۷). با توجه به ساختار مشابه پتنامری می توان عملکرد مشابهی را برای آن دو متصور شد (۱۵). در خصوص ایتجکتیزوم تصور می شود پروتئین های راس سوزن مسئول وارد شدن صحیح کمپلکس ترانس لوکان که تشکیل منفذ در غشای سلول یوکاریوتی را می دهد، می باشد (۱۵).

#### ۲-۲- ب - ساختار زائده رشته ای

یک استثناء جالب توجه در خصوص پروتئین های راس سوزن، پروتئین EspA می باشد که تشکیل یک دنباله رشته ای بلند و متمایز در انتهای سوزن EPEC (E. enteropathogenic *E. coli*) می دهد (شکل ۲) (۳۹). در ایتجکتیزوم EPEC یک ساختار طویل انعطاف پذیر که رشته EspA (EspA filament) نامیده می شود در ادامه سوزن ایتجکتیزوم دیده می شود (۱۲). رشته EspA یک پلی مر ماریجی است که از چندین کپی از پروتئین EspA تشکیل شده است. پروتئین EspA به لحاظ توالی همولوژی با اجزاء تازک باکتری ندارد (۴۰). آنالیز ژنوم نشان داد پروتئین EspA ارتولوگ LcrV می باشد. بنابراین در EPEC پروتئین راس سوزن برای پلیمریزه شدن به صورت یک رشته بجای تشکیل یک حلقه ساده (توسط پروتئین آب دوست LcrV) توسعه یافته است اما این پروتئین عملکرد خود را به عنوان سکوی برای تشکیل منفذ توسط دو پروتئین آب گریز حفظ کرده است (۴۰). طول رشته EspA بسیار متغییر است و می تواند تا بیش از ۶۰۰ نانومتر هم برسد که در این حالت ده برابر طویل تر از متوسط طول سوزن ایتجکتیزوم می باشد (۳۶). رشته EspA ممکن است برای سازگاری باکتری لازم باشد. رشته EspA ایتجکتیزوم این بیمارگر (بیمارگر سطح روده) را قادر می سازد تا از لایه ضخیم گلیکالیکس سطح اپی تیلوم نفوذ کند (۳۹).



می گردد (شکل ۲) (۳۹). این کمپلکس پروتئینی از دو پروتئین آب گریز تشکیل شده که بطور فیزیکی تشکیل یک متفذ در غشای پلاسمایی می دهد. بنابراین در ایتجکتیوم مدل، در تماس با میزبان به یک متفذ انتقال که در داخل غشای پلاسمایی سلول هدف قرار دارد، ختم می گردد (شکل ۱). مونتاژ این روزنه علاوه بر دو پروتئین آب گریز مذکور نیازمند پروتئین سوم آب دوست نیز می باشد. در مجموع به این پروتئین ها که ترانس لوکیتور نیز اطلاق می گردد، نیز جزء سویسترا های دستگاه ارسال می باشند و بعد از مونتاژ آن به بیرون سلول، در محل غشای سلول میزبان برای تشکیل متفذ انتقال ترشح می شوند. معمولا سه ترانس لوکیتور (YopD, YopB, و LcrV در *Yersinia spp*; IpaB, IpaC, و IpaD در *Shigella spp*) در هر ایتجکتیوم وجود دارد (۱۲).

### مونتاژ دستگاه اینجکتیوم

تشکیل کمپلکس سوپر ملکولی T3SS نیازمند برهمکنش بسیار دقیق و تنظیم شده بین پروتئین های تشکیل دهنده آن می باشد (۱۳). ایجاد این کمپلکس نیازمند هماهنگی پروتئین های بیرون سلولی، متصل به غشاء، پری پلاسمی و سیتوزولی می باشد. سر هم شدن (مونتاژ) T3SS همانند مونتاژ تارک منظم و به صورت سلسله مراتبی (مرحله به مرحله) می باشد (۲۵). ۱۷، ۱۲). مونتاژ ایتجکتیوم به صورت سلسله مراتبی صورت می گیرد و شامل سه مرحله عمده زیر می باشد؛ ۱ - تشکیل جسمک قاعده ای که شامل حلقه های (حلقه های) غشاء بیرونی و داخلی می باشد. ۲- مونتاژ ساختار سوزن؛ ۳- ترشح و جایگزینی پروتئین های تشکیل دهنده ترانس لوکان در غشای سلول هدف.

### کاربرد مطالعات حاصل از T3SS در بیوتکنولوژی

کشف تیپ ترشحی IV و امکان انتقال DNA بین سلسله ای یوکاریوت- پروکاریوت موجب تحولی شگرف در ژنتیک ملکولی گردید و تاثیر گسترده ای در علم، توسعه تکنولوژی و کشاورزی داشته است. از این منظر، سوالاتی مبنی بر این که چتین آنالوگی را می توان از مطالعه ایتجکتیوم تیپ III بدست آورد مطرح می باشد. یکی از کاربرد های ایتجکتیوم تیپ III

در حفاظت گیاهی با استفاده از افکتور های ترشحی، هارپین ها می باشد. هارپین ها و پروتئین های شبه هارپین از باکتری های بیمارگر گیاهی موجب برانگیختن پاسخ های دفاعی در گیاهان می شوند. که می توان آنها را با باکتری های تولید کننده آنها به صورت فرمولاسیون تجاری تهیه کرد (۳۷). هارپین ها اغلب موجب القاء مقاومت در گیاهان با طیف وسیع علیه انواع مختلف بیمارگر ها (۳۸) و بعضی حشرات، القا رشد و بهبود مقاومت به خشکی می گردند. از دیگر افکتور های باکتریایی T3SS نیز می توان برای القاء سیستم دفاعی گیاه استفاده کرد. اما آنها باید به داخل سلول تزریق گردند. در این حالت می توان از پروموتور های القا شونده توسط بیمارگر های بیماریزا برای ایجاد گیاهان تراریخت استفاده کرد. شکل ۴. نمایش شماتیک T3SS باکتری گیاهی (A) و جانوری (B). دستگاه ترشحی از دوغشای باکتریایی پل می زند و با ATPase سیتوپلاسمی مرتبط می باشد. ایتجکتیوم (T3SS) باکتری پاتوژن گیاهی با یک پیلولی خارج سلولی مرتبط است که از دیواره سلولی گیاه عبور می کند. ایتجکتیوم (T3SS) باکتری پاتوژن جانوری با یک سوزن خارج سلولی کوچک متصل است. سوزن از طریق کمپلکس راس (tip complex) به ترانس لوکان (translocon) متصل است که تشکیل یک کانال پروتئینی در غشاء پلاسمایی میزبان می دهد و امکان انتقال پروتئین های افکتور به داخل سیتوزول سلول میزبان را فراهم می کند. در باکتری های پاتوژن گیاهی فاقد کمپلکس راس (tip complex) می باشد. IM، غشاء داخلی؛ OM، غشاء بیرونی؛ PM؛ غشای پلاسمایی (۵). از ایتجکتیوم می توان در شناسایی و تشخیص استرین های باکتریایی بر اساس توالی ژن های رمز کننده افکتور یا خوشه ژنی رمز کننده دستگاه T3SS به جای روش های مرسوم بر اساس توالی های ریبوزومی (۱، ۳۴، ۳۵) استفاده کرد (۴۱). همچنین می توان از آنها در جهت اهداف تشخیصی با استفاده از پروب های تشخیصی طراحی شده برای جزایر بیماریزایی مانند جزایر بیماریزایی حاوی T3SS به جای پروب های طراحی شده بر اساس ژن های خانه داری استفاده کرد (۱۸). همچنین از باکتری های موتان T3SS می توان به عنوان واکسن های زنده استفاده کرد. این استراتژی بر خلاف جانوران در خصوص گیاهان به دلیل فقدان سیستم ایمنی همانند جانوران امکان پذیر نیست

(۱۰) از دیگر کاربردهای حاصل از مطالعه T3SS می توان به توسعه مواد شیمیایی سرکوب کننده پرازاری اشاره کرد. این مواد شیمیایی می توانند مسیرهای متعددی را مورد هدف قرار دهند شامل عمل انتقال افکتور ها توسط T3SS. تنظیم بیان ژن های پرازاری و اختلال در برهمکنش پروتئین- پروتئین. به لحاظ نظری مواد سرکوب کننده پرازاری بر خلاف مواد ضد باکتریایی متداول که موجب مرگ باکتری می شوند قادر به خلع سلاح کردن باکتری می باشد این عمل از فشار انتخابی در جهت توسعه مقاومت کاسته و همچنین از اثرات جانبی بر میکروفلور غیر هدف یا غیر بیماریزا می گاهد. . از این جتیه اجزاء خارج سلولی، اهداف بالقوه جالب توجه هستند. در سال های اخیر مطالعاتی در جهت شناسایی این نوع بازدارنده های طبیعی یا مصنوعی به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک ها انجام شده است(۹، ۲۷).

## منابع

- (۱) صابری، ا. صفایی ن. ، رحیمیان، ح. (۱۳۸۹) بررسی وضعیت تاکسونومیکی جدایه های اکسیداز مثبت سودوموناس دخیل در پوسیدگی غلاف برنج در استان مازندران با استفاده از rRNA RFLP ۱۶S. فصلنامه بیماری های گیاهی. ۴۵ (۳).
- (2) Abby SS, Rocha EPC. The Non-Flagellar Type III Secretion System Evolved from the Bacterial Flagellum and Diversified into Host-Cell Adapted Systems. *PLoS Genet*, 2012; 8(9): e1002983. doi: 10.1371/journal.pgen.1002983
- (3) Akeda Y, Galan JE. Chaperone release and unfolding of substrates in type III secretion. *Nature*, 2005; 437: 911-915
- (4) Alfano JR, Collmer A. The type III (Hrp) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins, and death. *J. Bacterio*, 1997; 179: 5655-62
- (5) Bailey CM. 2012, A bioinformatics analysis of bacterial type-III secretion system genes and proteins. Ph.D. thesis, University of Birmingham.
- (6) Blocker A, Jouihri N, Larquet E, Gounon P, Ebel F, Parsot C, Sansonetti P, Allaoui A. Structure and composition of the *Shigella flexneri* 'needle complex', a part of its type III secretin. *Molecular Microbiology*, 2001; 663-652 :39.
- (7) Bretz, J R, Hutcheson SW. Role of type III effector secretion during bacterial pathogenesis in another kingdom. *Infect. Immun*, 2004; 72: 3697-3705.
- (8) Büttner D, He SY. Type III secretion in plant pathogenic bacteria. *Plant Physiol.*, 2009; 150:1656-1664.
- (9) Clatworthy AE, Pierson E, Hung DT. Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nat. Chem. Biol*, 2007; 3:541-48

- (10) Coburn B, Sekirov I, Finlay BB. Type III secretion systems and disease. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2007; 20:535-491
- (11) Cordes FS, Komoriya K, Larquet E, Yang S, Egelman EH, Blocker A, Lea SM. Helical structure of the needle of the type III secretion system of *Shigella flexneri*. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 17103-17107.
- (12) Cornelis GR. The type III secretion injectisome. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2006; 4: 811-825.
- (13) Crabill E. 2012, the *Pseudomonas syringae* type III secretion system: the translocator proteins, their secretion, and the restriction of translocation by the immune system, Ph.D. thesis, University of Nebraska - Lincoln.
- (14) Deane JE, Roversi P, Cordes FS, Johnson S, Kenjale R, Daniell S, Booy F, Picking W D, Picking WL, Blocker AJ, Susan ML. Molecular model of a type III secretion system needle: implications for host-cell sensing. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2006; 17: 3640-50.
- (15) Erhardt M, Namba K, Hughes KT. Bacterial nanomachines: the flagellum and type III injectisome. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010; 2: a000299.
- (16) Fadoulogioulou VE, Tampakaki AP, Glykos NM, Bastaki MN, Hadden JM, Phillips SE, Panopoulos NJ, Kokkinidis M. Structure of HrcQB-C, a conserved component of the bacterial type III secretion systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2004; 101: 70-75.
- (17) Gala'n JE, Wolf-Watz H. Protein delivery into eukaryotic cells by type III secretion machines. *Nature*, 2006; 444: 567-573.
- (18) Genin S, Boucher C. Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol*, 2004; 42:107-34
- (19) Gou M, Tiang F, Wamboldt Y, Alfano JR. The majority of the type III effector inventory of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 can suppress plant immunity. *Mol Plant Microbe Interact*, 2009; 22:1069-1080.
- (20) He SY. Hrp-controlled interkingdom protein transport: learning from flagellar assembly?. *TIM*, 1997; 5: 489-95.
- (21) Henderson I.R., Navarro-Garcia F., Desvaux M., Fernandez R.C. and Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiol Mol Biol R*, 2004; 68: 692-744.
- (22) Hinsä SM, Espinosa-Urgel M, Ramos JL, O'Toole GA. Transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 requires an ABC transporter and a large secreted protein. *Mol Microbiol*, 2003; 49: 905-18.
- (23) Hosseinzadeh S., shams Bakhsh M. Bacterial Flagella; Morphology, Assembly and Torque-Generating. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 2013; 3(9): 18-9. (full text in Persian)
- (24) Hueck CJ. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol R*, 1998; 62:379-433.
- (25) Izore' TJV, Dessen A. Biogenesis, regulation, and targeting of the type III secretion system. *Structure*, 2011; 19: 603-612.
- (26) Jin, Q, Thilmouy, R, Zwiesler-Vollick, J, He, SY. Type III protein secretion in *Pseudomonas syringae*. *Microbes Infect*, 2003; 5: 301-310
- (27) Lee VT, Kessler JL. Type III secretion systems as targets for novel therapeutics. *IDrugs*, 2009;12:636-41
- (28) Lindeberg, M, Cunnac, S, Collmer, A. *Pseudomonas syringae* type III effector repertoires: last words in endless arguments. *Trends Microbiol*, 2012; 20: 199-208
- (29) Marlovits T.C., Kubori T., Lara-Tejero M., Thomas D. and Unger V.M. Galan JE. Assembly of the inner rod determines needle length in the type III secretion injectisome. *Nature*, 2006; 441:637-640 .
- (30) Michiels T, Wattiau P, Brasseur R, Ruysschaert JM, Cornelis G. Secretion of Yop proteins by *Yersinia*. *Infect Immun*, 1990; 58: 2840-9.
- (31) Moraes TF, Spreter T, Strynadka NC. Piecing together the type III injectisome of bacterial pathogens. *Curr Opin Struc Biol*, 2008; 18: 258-266.
- (32) Muller SA, Pozidis C, Stone R, Meesters C, Chami M, Engel A, Economou A, Stahlberg H. Double hexameric ring assembly of the type III protein translocase ATPase HrcN. *Mol Microbiol*, 2006; 61:119-125.
- (33) Ren H, Song T, Wu T, Sun L, Liu Y. Effects of a biocontrol bacterium on growth and defense of transgenic rice plants expressing a bacterial type-III effector. *Ann. Microbiol*, 2006; 56:281-87.



- (34) Saberi E, Safaie N. Assessment of Genetic Diversity among Strains of *Pseudomonas syringae* Associated with Bacterial Sheath Rot in Iran (Mazandaran province) Using ITS – RFLP Analysis. *Intl J Agron Plant Prod*, 2013; 4 (5): 1040-1047.
- (35) Saberi E, Safaie N, Rahimian H. Characterization of bacterial strains associated with sheath rot complex and grain discoloration of rice in North of Iran (Mazandaran province). *J. Bacteriol. Res*, 2013; 5(5): 51-61.
- (36) Sekiya K, Ohishi M, Ogino T, Tamano K, Sasakawa C, Abe, A. Supermolecular structure of the enteropathogenic *Escherichia coli* type III secretion system and its direct interaction with the EspA-sheath-like structure *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 2001; 98: 11638–11643
- (37) Strobel RN, Gopalan JS, Kuc JA, He SY. Induction of systemic acquired resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 61 HrpZPss protein. *Plant J*, 1996; 9:431–39.
- (38) Tampakaki AP, Skandalis N, Gazi AD, Bastaki MN, Sarris PF, Charova SN, Kokkinidis M, Panopoulos NJ . Playing the “Harp”: Evolution of Our Understanding of hrp/hrc Genes, *Annu Rev Phytopathol*, 2010; 48: 347-370
- (39) Worrall L.J., Lameignere E. and Strynadka N.C. Structural overview of the bacterial injectisome. *Curr Opin Microbiol*, 2011; 14(1): 3-8.
- (40) Yip CK, Strynadka NC. New structural insights into the bacterial type III secretion system. *Trends Biochem. Sci*, 2006; 31: 223-230.
- (41) Zaccardelli M, Campanile F, Spasiano A, Merighi M. Detection and identification of the crucifer pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, by PCR amplification of the conserved Hrp/type III secretion system gene *hrcC*. *Eur. J. Plant Pathol*, 2007; 118:299–306

Archive of SID