بررسی شبکه ژنی مقاومت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین تحت کنترل ژن‌های *tetA* و *tetB* با استفاده از اطلاعات موجود در پایگاه‌های داده

یعقوب شیری[۱*]، بهمن فاضلی نسب[۲]

۱- استادیار گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- مربی گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۲۸ مهر ۱۳۹۸، بازنگری: ۸ آبان ۱۳۹۸، پذیرش نهایی: ۸ آبان ۱۳۹۸

چکیده

فرایند مقاومت به آنتی‌بیوتیک به دو دسته مقاومت ذاتی و مقاومت اکتسابی تقسیم می‌شوند. در مقاومت ذاتی باکتری به دلیل ویژگی‌های خاص خود به یک یا تمام آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهد. اما مقاومت اکتسابی در اثر تغییرات مولکولی در باکتری‌های حساس به یک آنتی‌بیوتیک ایجاد شده و نهایتاً سبب به‌وجود آمدن باکتری‌های مقاوم به آن آنتی‌بیوتیک می‌شود که دلیل آن می‌تواند جهش‌های کروموزومی، ترانسپوزون‌ها و یا پلاسمیدهای قابل انتقال باشند. ژن‌های متعددی مکانیسم‌های متنوع مقاومت باکتریایی را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها کنترل می‌کنند. ژن‌های *tetA* و *tetB* اصلی‌ترین ژن‌های فعال‌کننده مکانیسم پمپ یونی افلاکس تتراسایکلین بوده و سبب کاهش غلظت تتراسایلکین در داخل باکتری می‌شوند. در این مطالعه شبکه ژن‌های *tetA* و *tetB* با استفاده از داده‌ها و اطلاعات موجود در پایگاه‌های داده‌های مولکولی بازسازی شد. شبکه‌ی بازسازی شده به روشنی تأیید می‌کند که ژن‌های *tetA* و *tetB* در افلاکس تتراسایکلین به خارج از سلول نقش مستقیم دارند. ژن *tetB* با همکاری سایر پروتئین‌ها، علاوه بر افلاکس تتراسایکلین، نقش کلیدی در سمیت‌زدایی و آنتی‌پورت طیف گسترده‌ای از سموم مثل استرپتوترسین و اسیدهای فنولیک دارد. همچنین آنالیزهای ژن آنتولوژی نشان داد. اغلب ژن‌های درگیر در فرایند افلاکس تتراسایکلین پروتئین غشایی هستند و عملکرد مولکولی آنها ترانسپورتر می‌باشد.

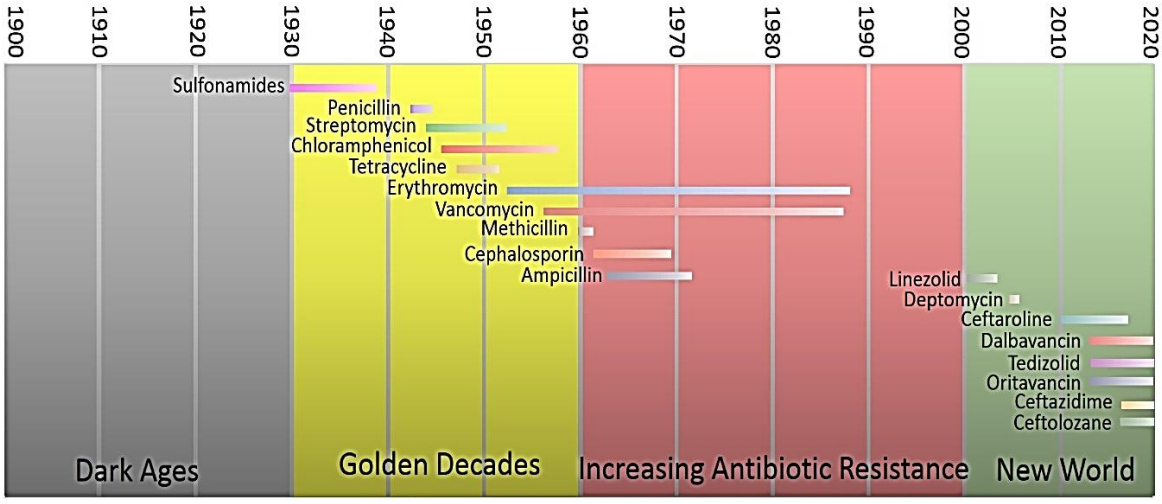
واژگان کلیدی: *آنتی‌بیوتیک، باکتری، تتراسایکلین، شبکه ژنی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: yasob.shiri@uoz.ac.ir

مقدمه

تتراسایکلین آنتی‌بیوتیکی است که نخستین بار در سال ۱۹۴۸ وارد طب پزشکی شد و در سال ۱۹۵۳ مقاومت به این آنتی‌بیوتیک در میان باکتری‌ها گزارش شده است. این آنتی‌بیوتیک یک آنتی‌بیوتیک باکتریواستاتیک بوده و برخلاف باکتریسیدها که سبب کشته شدن باکتری می‌شوند، باعث توقف رشد باکتری می‌گردد. عملکرد تتراسایکلین بدین صورت است که با اتصال به ریبوزوم از فرایند ترجمه سلولی ممانعت به عمل می‌آورد و از طویل شدن رشته‌های آمینو اسید جلوگیری می‌کند.

در شکل (۱) تاریخچه معرفی و گزارش مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های شناخته شده آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود. چهار دوره تاریخی برای تاریخچه آنتی‌بیوتیک‌ها متصور می‌باشد که دوره قبل از کشف آنها را می‌توان عصر تاریکی نامید که اغلب بیماران با عفونت‌های باکتریایی جان خود را از دست می‌دادند. در دوران طلایی کشف آنتی‌بیوتیک‌ها، محققین در عرض سه دهه ده‌ها آنتی‌بیوتیک را معرفی کردند. در دوره سوم به دلایل متعدد کشف و توسعه آنتی‌بیوتیک جدید به کلی فراموش شد و شاهد گزارش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بودیم. همچنین در این دوره دانشمندان راهکارهای متنوع باکتریایی در جهت فعال‌سازی مکانیسم مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها را یکی پس از دیگری شناسایی کردند. با آغاز قرن ۲۱ عصر جدیدی در اکتشاف آنتی‌بیوتیک‌ها آغاز شده است. همچنین مطالعه برروی فرایندهای متنوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی امیدها برای امکان افزایش اثرگذاری آنتی‌بیوتیک‌های عصر طلایی را میسر ساخته است.



شکل ۱- تاریخچه کشف آنتی‌بیوتیک‌ها و گزارش مقاومت مربوط به هر آنتی‌بیوتیک. طول ستون مشاهده شده در مقابل هر آنتی‌بیوتیک نشان دهنده مدت زمان سپری شده از معرفی آنتی‌بیوتیک تا گزارش مقاومت به آن می‌باشد.

به طور کلی فرایند مقاومت به آنتی‌بیوتیک به دو دسته مقاومت ذاتی و مقاومت اکتسابی تقسیم می‌شود. در مقاومت ذاتی باکتری به دلیل ویژگی‌های خاص خود به یک یا تمام آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهد. مثلاً باکتری *سودوموناس ائوروژینوزا* به دلیل نفوذپذیری پایین غشاء، در مقابل اغلب آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت کامل یا نسبی دارد. اما در مقاومت اکتسابی همان‌طور که از عنوان

آن پیداست در اثر تغییرات مولکولی در باکتری‌های حساس به یک آنتی‌بیوتیک ایجاد شده و نهایتاً سبب به وجود آمدن باکتری‌های مقاوم به آن آنتی‌بیوتیک می‌شود که دلیل آن می‌تواند جهش‌های کروموزومی، ترانسپوزون‌ها و یا پلاسمیدهای قابل انتقال باشند. فرایند مقاومت به تتراسایکلین با یکی از مکانیسم‌های پروتئین‌های محافظت‌کننده ریبوزومی، کاهش نفوذپذیری غشاء، جهش در ژن rRNA ۱۶S، افلاکس تتراسایکلین، و غیر فعال‌سازی آنزیمی ایجاد می‌گردد (۱). در کنار مکانیسم‌های قدیمی مکانیسم‌های جدیدی توسط محققین شناسایی شده‌اند که نشان‌دهنده قابلیت باکتری‌ها در توسعه راه‌های جدید برای مقابله با عوامل مهارکننده از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند (۲). ژن‌های متعددی مکانیسم‌های متنوع مقاومت باکتریایی را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها کنترل می‌کنند. این ژن‌ها که اغلب بر روی پلاسمیدهای با قابلیت انتقال و ترانسپوزون‌ها قرار دارند پمپ‌های یونی افلاکس تتراسایکلین و یا پروتئین‌های محافظت‌کننده از ساختار ریبوزوم را فعال می‌کنند.

قرار گرفتن این ژن‌ها بر روی پلاسمیدهای انتقال‌شونده و ترانسپوزون‌ها سبب گسترش ویژگی مقاومت به آنتی‌بیوتیک در میان سویه‌های باکتری می‌گردد. ژن‌های *tetA* و *tetB* اصلی‌ترین ژن‌های فعال‌کننده مکانیسم پمپ یونی افلاکس تتراسایکلین بوده و در نتیجه کاهش غلظت تتراسایلکین در داخل باکتری را سبب می‌شوند. پروتئین‌های افلاکس تتراسایکلین، پروتئین‌های غشایی هستند که تتراسایکلین را شناسایی کرده و به خارج از سلول هدایت می‌کنند. حداقل ۲۲ پروتئین مقاومت به تتراسایکلین با مکانیسم افلاکس تتراسایکلین شناسایی شده‌اند که بر اساس تشابه توالی طبقه‌بندی می‌شوند: گروه اول شامل *tetA*، *tetB*، *tetC*، *tetD*، *tetE*، *tetG*، *tetH*، *tetJ*، *tetZ* و *tet30* می‌باشد. در گروه دوم ژن‌های *tetK* و *tetL* قرار دارند. این دو گروه اول شناخته شده‌تر از سایر ژن‌های افلاکس تتراسایکلین می‌باشند (۱). جدول (۱) ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین و مکانیسم مقاومت را به ترتیب آورده است.

جدول ۱- طبقه‌بندی ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین بر اساس مکانیسم مقاومت

مکانیسم مقاومت	ژن مقاومت به تتراسایکلین
افلاکس تتراسایکلین	*tetA, tetB, tetC, tetD, tetE, tetG, tetH, tetJ, tetZ, tet30, tetK, tetL, otrB, tcr3, tetA(P), tetV, tet31, tet33, tetY, tet34, tet35*
محافظت از ساختار ریبوزوم	*tetM, tetO, tetS, tetW, tet32, tet36, tetQ, tetT, otrA, tetB(P)*
تغییر شیمیایی در تتراسایکلین	*tet37, tetX, tetU, OtrC*

پمپ افلاکس طی یک فرایند وابسته به انرژی تتراسایکلین را به خارج از سلول پمپ کرده و یون هیدروژن را به داخل سلول هدایت می‌کند. شناسایی شبکه ژنی درگیر در فرایند بیولوژیکی این مکانیسم دفاعی در باکتری‌ها، می‌تواند راهکار مناسب برای عبور از این سیستم دفاعی را جهت افزایش اثرگذاری آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین مشخص نماید. تحقیق حاضر با هدف بازسازی شبکه ژن‌های *tetA* و *tetB* درگیر در فرایند مقاومت افلاکس تتراسایکلین با استفاده از داده‌ها و اطلاعات موجود در پایگاه‌های شناخته شده داده‌های مولکولی طراحی شده است.

مواد و روش

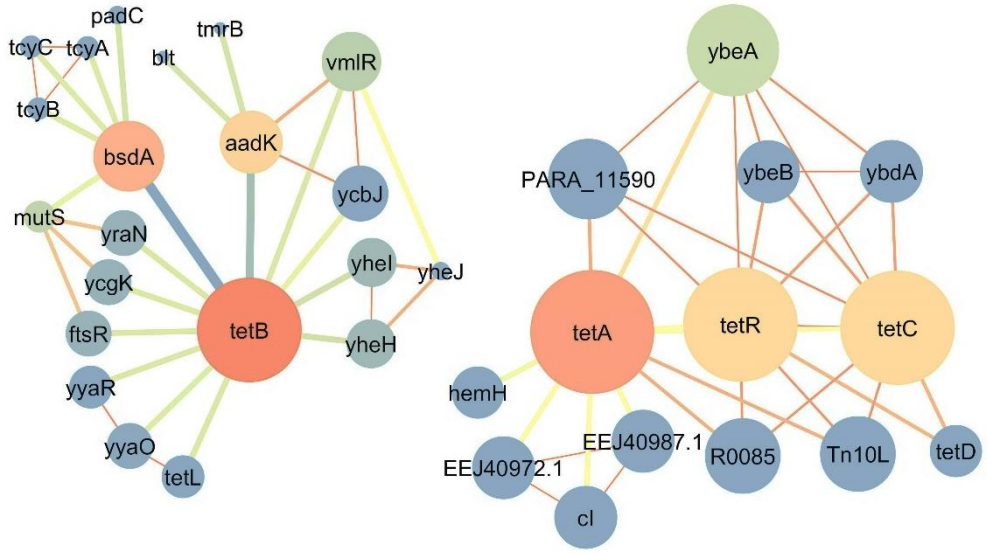
در این مطالعه از اطلاعات مولکولی باکتری *Bacillus subtilis* دارای مکانیسم افلاکس تتراسایکلین استفاده شد. با استفاده از پایگاه داده

STRING-db و بر اساس پارامترهای Text mining، Experiments، Databases، Co-occurrence، Neighborhood، Gene fusion و Co-Expression سایر ژن‌های مرتبط با ژن‌های *tetA* و *tetB* شناسایی شدند (۳). میزان همبستگی ژن‌ها بر اساس پارامترهای اشاره شده استخراج و به عنوان داده‌های خام در نرم افزار Cytoscape برای بازسازی شبکه ژنی *tetA* و *tetB* استفاده شدند (۴). از پلاگین NetworkAnalyzer برای تنظیم و بررسی توپولوژی شبکه استفاده شد (۵). در بررسی توپولوژی شبکه دو مؤلفه Betweenness Centrality و Closeness Centrality اهمیت کلیدی دارند. مؤلفه Betweenness Centrality عبارت است از میزان مرکزیت یک node در یک شبکه پیچیده و بر اساس تعداد خطوط ارتباطی هر node محاسبه می‌گردد. در مقابل Closeness Centrality عبارت است از کوتاه‌ترین فاصله از یک node به سایر nodeها. به عبارت ساده‌تر میزان بالای Betweenness Centrality و Closeness Centrality برای یک node نشان‌دهنده اهمیت بالای آن node در شبکه می‌باشد (۵). در نهایت با استفاده از پایگاه داده DAVID آنالیزهای آنتولوژی ژن‌های موجود در شبکه انجام شد (۶). آنالیزهای آماری مربوط به آنتولوژی بر اساس P-value Benjamine محاسبه شد (۷). جهت استخراج اطلاعات مولکولی مورد نیاز برای تکمیل پروژه از پایگاه‌ها اطلاعات پروتئینی UniProt استفاده شد (۸).

نتایج و بحث

شکل (۲) شبکه ژن‌های مرتبط با ژن *tetA* و *tetB* را به صورت دو زیرشبکه مستقل نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است در زیرشبکه ژن *tetA* بالاترین میزان Betweenness Centrality به ترتیب برای ژن‌های *tetA* (۰/۵۲۱)، *tetC* (۰/۱۶۸) و *tetR* (۰/۱۶۸) مشاهده شد. بالاترین میزان Closeness Centrality برای ژن‌های *tetA*، *tetC* و *tetR* به ترتیب با مقادیر (۰/۸۱۲)، (۰/۷۶۴) و (۰/۷۶۴)، همچنین بیشترین تعداد خطوط ارتباطی مستقیم با مقادیر (۱۱، ۹، ۹) به همین سه ژن متعلق می‌باشد. *Heme*ها بیوملکول‌های عضو خانواده تتراپیرول هستند که نقش مهمی در متابولیسم انرژی و کاتالیز اکسیداتیو بازی می‌کنند (۹). محصول ژن *hemH* با کاتالیز اتصال آهن به پروتوپورفیرین، آخرین گام در سنتز *heme* را کنترل می‌کند. مطالعات نشان داده جهش یافته‌های *hemA* بر روی صفحه LB رشد کندی دارند و کلنی‌های ضعیف پراکنده‌ای درست می‌کنند. اما در حضور تتراسایکلین تعداد کلنی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۱۰). این یافته ضمن تأیید شبکه ژنی *tetA* و ارتباط آن با ژن *hemH*، نشان می‌دهد *tetA* در افزایش فعالیت کاتالیز اکسیداتیو نیز ایفای نقش می‌کند. کاردیولیپین (*cl*) دیگر ژن دارای برهمکنش با ژن *tetA* در غشاهای انتقال دهنده انرژی اکثر باکتری‌ها و غشای میتوکندی یوکاریوت‌ها ایفای نقش می‌کند (۱۱). مطالعات نشان داده تتراسایکلین نقش مثبتی در افزایش فعالیت کاردیولیپین در غشاء و در نتیجه بهبود فرایند بیولوژیکی غشاء دارد (۱۲). با توجه به نقش ژن *tetA* در افلاکس تتراسایکلین به خارج از سلول و کاهش اثر سمیت آن برای سلول باکتری، می‌توان نتیجه گرفت این ژن با افزایش سنتز *hemH* و *cl*، میزان انرژی مورد نیاز برای آنتی‌پورت تتراسایکلین از طریق غشاء را تأمین می‌کند. ژن‌های *ybeA*، *ybeB* و *ybdA* خاموش کننده‌های ریبوزومی بوده و فعالیت ترجمه‌ای سلول را مختل می‌کنند. این پروتئین‌ها به زیرواحدهای ۳۰S و ۵۰S ریبوزوم متصل شده و از اتصال این دو زیرواحد و تشکیل ساختار عملکردی ریبوزوم جلوگیری می‌کنند (۱۳). به نظر می‌رسد ژن *tetA* با ممانعت از تشکیل ساختار عملکردی ریبوزوم از اثرگذاری آنتی‌بیوتیک

تتراسایکلین بر روی ریبوزوم ممانعت کرده و بدین صورت زیرواحدهای ریبوزوم را تا زمان رفع مسمومیت تتراسایکلین جدا از هم نگه می‌دارد. هرچند اتصال تتراسایکلین قابل برگشت است و با رفع مسمومیت تتراسایکلین ساختار ریبوزوم به فعالیت خود ادامه می‌دهد.



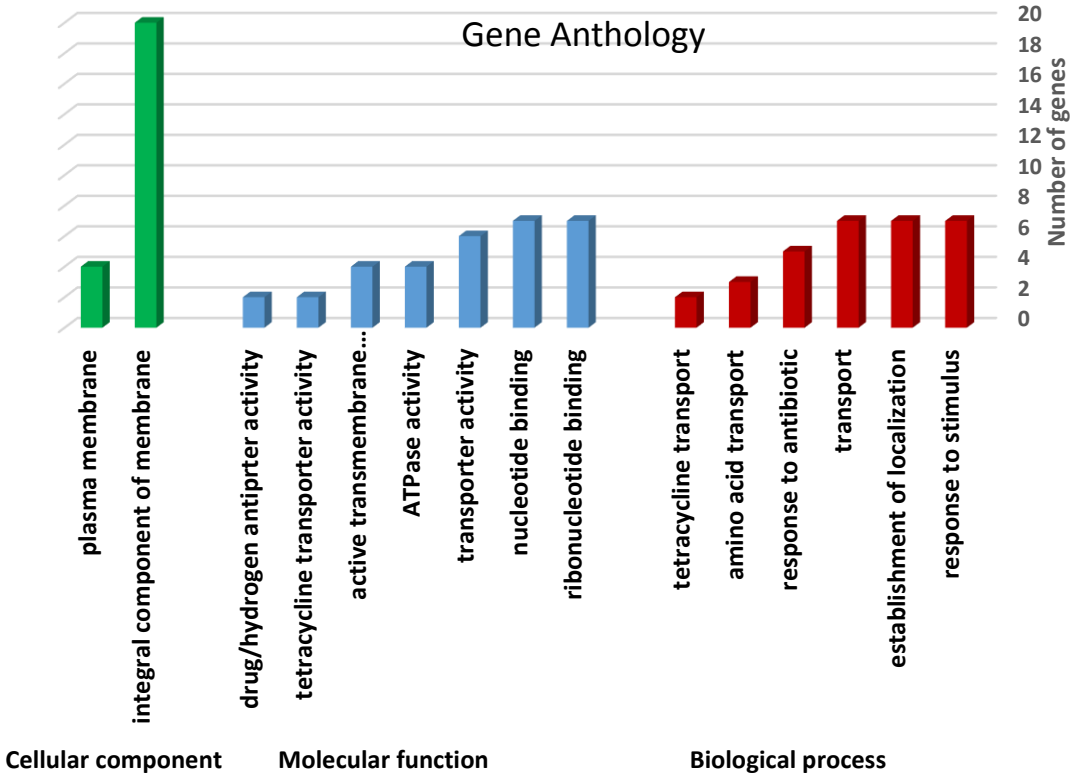
شکل ۲- شبکه ژنی جامع ژن‌های *tetA* و *tetB* در باکتری *Bacillus subtilis*. اندازه node بر اساس میزان Betweenness Centrality (اندازه کوچک برای مقادیر کمتر)، و رنگ node از آبی (Closeness Centrality پایین) تا قرمز (Closeness Centrality بالا) متغیر می‌باشد. رنگ و ضخامت خطوط ارتباطی بر مبنای Edge Betweenness از قرمز و ضخیم برای مقادیر زیاد تا آبی و نازک برای مقادیر کم متغیر است.

در زیر شبکه بازسازی شده برای ژن *tetB*، بالاترین مقادیر Closeness Centrality (۰/۷۱۴)، (۰/۵۴۰) و (۰/۴۸۷)، بالاترین مقادیر Betweenness Centrality (۰/۷۴۴)، (۰/۳۶۸) و (۰/۱۹۴) و بیشترین تعداد خطوط ارتباطی (۱۲)، (۶) و (۵) به ترتیب متعلق به ژن‌های *tetB*، *bsdA* و *aadK* می‌باشد. اسیدهای فنولیک موجود در اکوسیستم‌های گیاهی خاک می‌توانند به عنوان سموم در نظر گرفته شوند، چرا که بسیاری از میکرواگانیسم‌های خاکزی را تحت تنش قرار می‌دهند. ژن *psdA* نقش کلیدی در القای مقاومت باکتری *Bacillus subtilis* و دکربوکسیلاسیون و سم‌زدایی اسیدهای فنولیک مختلف دارد (۱۴). ژن‌های *TcyABC* بخشی از مجموعه حمل و نقل ABC بوده و در جذب L- سیستین به داخل سلول دخیل هستند (۱۵). انتقال دهنده‌های ABC (کاست اتصال به ATP) بزرگ‌ترین خانواده پروتئین‌های غشایی را در میکروارگانیسم‌ها تشکیل می‌دهند و می‌توانند در یک فرایند وابسته به ATP، طیف گسترده‌ای از سوبستراها را علیه گرادیان غلظت حمل و نقل کنند. محصول ژن *yheH* نیز یک انتقال‌دهنده ABC می‌باشد و احتمالاً در انتقال طیف متنوعی از سموم به خارج از سلول ایفای نقش می‌کند (۱۶). آمینوگلیکوزیدها عوامل ضد میکروبی با طیف گسترده‌ای هستند. محصول ژن *aadK* آنزیم مسئول مقاومت در برابر این عوامل آنتی‌باکتریال می‌باشد به طوری که از اتصال آنها به ریبوزوم و ممانعت از فعالیت ترجمه‌ای سلول جلوگیری می‌کند (۱۷). محصول ژن *ycgK* در اخراج پروتئین‌های مضر که وارد سلول شده‌اند ایفای نقش می‌کند

(۱۸). ژن *ysbJ* بخشی از خانواده بزرگ *ycb* هست که در شرایط تنش محیطی از اسپورزایی باکتریی ممانعت می‌کند (۱۹). ممانعت از اسپورزایی در شرایط تنش محیطی امکان ذخیره انرژی باکتری برای بقاء و عبور از شرایط تنش را میسر می‌سازد. ژن‌های *yraN* و *ftsR* از تنظیم کننده‌های رونویسی HTH هستند اما عملکرد دقیق آنها ناشناخته می‌باشد، احتمالاً با افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز متیونین و سیستئین میزان اکسیژن فعال درون سلولی را کاهش می‌دهند (۲۰). استرپتوترسین یک آنتی‌بیوتیک با طیف گسترده است که توسط استرپتومایست‌ها تولید می‌شود و به طور یکسان باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ژن‌های *yyaO*، *yyaR* باکتری *Bacillus subtilis* را در مقابل استرپتوترسین مقاوم می‌کند (۲۱). با مشخص شدن عملکرد ژن‌های شبکه ژن *tetB* می‌توان این نتیجه را استنباط کرد که ژن *tetB* تنها مقاومت به تتراسایکلین را القاء نمی‌کند، بلکه مسیرهای متعددی از مقاومت به داروها و سموم را در باکتری‌ها القاء می‌کند.

بیان ژن‌های *tet* توسط خانواده‌ای از تنظیم کننده‌های رونویسی تتراسایکلین معروف به *tetR* کنترل می‌شود. تنظیم کننده‌های خانواده *tetR* در کنترل رونویسی پمپ های افلاکس چند دارو، مسیرهای بیوسنتز آنتی‌بیوتیک‌ها ، پاسخ به استرس اسمزی و مواد شیمیایی سمی، کنترل مسیرهای کاتابولیک، فرایندهای تمایز و بیماری‌زایی نقش دارند. پروتئین‌های *tetR* که در بیش از ۱۱۵ جنس باکتری و آرکئی‌ها وجود دارد یک ساختار مشترک مارپیچ-مارپیچ (HTH) را در دامنه اتصال به DNA خود به اشتراک می‌گذارند (۲۲). با این حال، پروتئین‌های *tetR* می‌توانند به روش‌های مختلفی عمل کنند. آنها می‌توانند مستقیماً به محصول هدف متصل شوند تا اثر خود را اعمال کنند (مثلاً *tetR* مستقیما به پروموتور ژن *tetA* متصل می‌شود تا در شرایط عدم وجود تتراسایکلین بیان آن را سرکوب کند)، یا می‌توانند در آبشارهای نظارتی پیچیده درگیر شوند به طوری که پروتئین *tetR* توسط تنظیم‌کننده دیگری تعدیل شود یا محرک پاسخ سلولی باشد (۲۲). *tetL* یک پروتئین تراغشایی است که آنتی‌پورت metal- tetracycline/H+ را به عهده دارد و بیان آن در حضور تتراسایکلین تحریک می‌شود (۲۳).

شکل (۳) نتایج آنالیزهای ژن آنتولوژی را نشان می‌دهد. سه دسته نمودار مشاهده شده در تصویر به ترتیب مربوط به مسیر بیولوژیکی، عملکرد مولکولی و جایگاه سلولی ژن‌های مشارکت‌کننده در شبکه می‌باشد. پاسخ به محرک خارجی، اختصاصی‌سازی نواحی سلولی و انتقال مواد به ترتیب با ۷ ژن و p-value (6.0E-1)، (4.9E-1) و (4.9E-1) فعال‌ترین مسیرهای بیولوژیکی در فرایند مقاومت به تتراسایکلین هستند. اتصال به ریبونوکلئوتیدها (p-value:6.5E-1)، اتصال به نوکلئوتیدها (p-value:3.9E-1) و عملکرد ترانسپورتری (p-value:4.5E-1) به ترتیب با ۷، ۷ و ۶ ژن بالاترین عملکرد مولکولی مشاهده شده در میان ژن‌های مورد مطالعه بود. همان‌طور که در نمودار شکل (۳) مشخص است جایگاه سلولی ژن‌ها اغلب بر روی غشای سلولی قرار داشت. نتایج آنالیزهای ژن آنتولوژی تأکید بر این نکته دارد که ژن‌های *tetA* و *tetB* به صورت فعال در افلاکس تتراسایکلین نقش دارند و این کار با هماهنگی مجموعه‌ای از پروتئین‌های فعال بر روی غشاء سلولی و دارای عملکرد مولکولی ترانسپورتر صورت می‌گیرد.



شکل ۳- نمودار آنالیزهای ژن آنتولوژی ژن‌های دارای برهمکنش در شبکه ژنی *tetA* و *tetB*

نتیجه‌گیری

شبکه بازسازی‌شده به روشنی تأیید می‌کند که ژن‌های *tetA* و *tetB* در افلاکس تتراسایکلین به خارج از سلول نقش مستقیم دارند. همچنین ژن *tetA* با اثرگذاری بر بیان ژن *yebA* در کنار ژن‌های *tetC* و *tetR*، از اتصال زیرواحدهای ریبوزوم جلوگیری می‌کند. این موضوع می‌تواند گواهی بر نقش محافظتی ساختار ریبوزوم در کنار نقش افلاکس تتراسایکلین باشد. همچنین بررسی شبکه ژنی *tetB* مشخص کرد این ژن با فعال کردن و برهمکنش فعالیت با سایر ژن‌های موجود در شبکه نظیر *psdA*، *yheH*، *yyaO* و *yyaR* علاوه بر افلاکس تتراسایکلین، نقش کلیدی در سمیت‌زدایی و آنتی‌پورت طیف گسترده‌ای از سموم مثل استرپتوترسین و اسیدهای فنولیک دارد. نتایج آنالیزهای ژن آنتولوژی نشان داد ژن‌های *tetA* و *tetB* افلاکس تتراسایکلین را با هماهنگی مجموعه‌ای از پروتئین‌های فعال بر روی غشاء سلولی و دارای عملکرد مولکولی ترانسپورتر انجام می‌دهند.

References

1- Kamrani Hemat N, Mirzaee M, Najar-peerayeh S. Prevalence of tetracycline resistance genes (tetA, tetB) and antibiotic resistance pattern in uropathogenic Escherichia coli isolates. NCMBJ. 2017; 7(25):9-18 [In Persian].

2- Shokri D, Rabbani-Khorasgani M. New Molecular Resistance Mechanisms again Antibiotics in Bacteria. J Isfahan Med Sch 2015; 33(328): 410-28 [In Persian].

3- Szklarczyk D, Morris JH, Cook H, Kuhn M, Wyder S, Simonovic M, *et al.* The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible. Nucleic acids research. 2017; 45(Database issue):D362-D8.

4- Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS,

Wang JT, Ramage D, *et al.* Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. Genome research. 2003; 13(11):2498-504.

5- Assenov Y, Ramirez F, Schelhorn SE, Lengauer T, Albrecht M. Computing topological parameters of biological networks. Bioinformatics. 2008; 24(2):282-4.

6- Jiao X, Sherman BT, Huang DW, Stephens R ,Baseler MW, Lane HC, *et al.* DAVID-WS: a stateful web service to facilitate gene/protein list analysis. Bioinformatics (Oxford, England). 2012; 28(13):1805-6.

7- Benjamini Y, Hochberg A. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. J Royal Stat Soc Ser. 1995; 57.

8- Apweiler R, Bairoch A, Wu CH, Barker WC, Boeckmann B, Ferro S, *et al.* UniProt: the Universal Protein knowledgebase. Nucleic acids research. 2004; 32(Database issue):D115-D9.

9- Beale S. Biosynthesis of Hemes. EcoSal Plus. 2007.

10- Elgrably-Weiss M, Park S, Schlosser-Silverman E, Rosenshine I, Imlay J, Altuvia S. A Salmonella enterica serovar typhimurium hemA mutant is highly susceptible to oxidative DNA damage. J Bacteriol. 2002; 184(14):3774-84.

11- Tan BK, Bogdanov M, Zhao J, Dowhan W, Raetz CR, Guan Z. Discovery of a cardiolipin synthase utilizing phosphatidylethanolamine and phosphatidylglycerol as substrates. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012; 109(41)16504-9.

12- Serricchio M, Bütikofer P. An essential bacterial-type cardiolipin synthase mediates cardiolipin formation in a eukaryote. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012; 109(16):E954-E61.

13- Hauser R, Pech M, Kijek J, Yamamoto H, Titz B, Naeve F, *et al.* RsfA (YbeB) proteins are conserved ribosomal silencing factors. PLoS genetics. 2012; 8(7):e1002815.

14- Duy NV, Mader U, Tran NP, Cavin JF, Tam le T, Albrecht D, *et al.* The proteome and transcriptome analysis of Bacillus subtilis in response to salicylic acid. Proteomics. 2007; 7(5):698-710.

15- Burguiere P, Auger S, Hullo MF, Danchin A, Martin-Verstraete I. Three different systems participate in L-cystine uptake in Bacillus subtilis. J Bacteriol. 2004; 186(15):4875-84.

16- Torres C, Galian C, Freiberg C, Fantino JR, Jault JM. The YheI/YheH heterodimer from Bacillus subtilis is a multidrug ABC transporter. Biochimica et biophysica acta. 2009; 1788(3):615-22.

17- Cox G, Stogios PJ, Savchenko A, Wright GD. Structural and molecular basis for resistance to aminoglycoside antibiotics by the adenylyltransferase ANT(2″)-Ia. MBio. 2015; 6(1):e02180-14.

18- Baars L, Ytterberg AJ, Drew D, Wagner S, Thilo C, van Wijk KJ, *et al.* Defining the role of the Escherichia coli chaperone SecB using comparative proteomics. J Biol Chem. 2006; 281(15):10024-34.

19- Hosoya S, Yamane K, Takeuchi M, Sato T. Identification and characterization of the Bacillus subtilis D-glucarate/galactarate utilization operon ycbCDEFGHJ. FEMS microbiology letters. 2002; 210(2):193-9.

20- Gebendorfer KM, Drazic A, Le Y, Gundlach J, Bepperling A, Kastenmuller A, *et al.* Identification of a hypochlorite-specific transcription factor from Escherichia coli. J Biol Chem. 2012; 287(9):6892-903.

21- Burckhardt RM, Escalante-Semerena JC. In Bacillus subtilis, the SatA (Formerly YyaR) Acetyltransferase Detoxifies Streptothricin via Lysine Acetylation. Appl Environ Microbiol. 2017; 83(21):e01590-17.

22- Ramos JL, Martínez-Bueno M, Molina-Henares AJ, Terán W ,Watanabe K, Zhang X, *et al.* The TetR family of transcriptional repressors. Microbiol Mol Biol Rev. 2005; 69(2):326-56.

23- Stasinopoulos SJ, Farr GA, Bechhofer DH. Bacillus subtilis tetA(L) gene expression: evidence for regulation by translational reinitiation. Mol Microbiol. 1998; 30(5):923-32.

Evaluation of gene network on tetracycline antibiotic resistance controlled by *tetA* and *tetB* genes using databases information

Yasoub Shiri[1*], Bahman Fazeli-Nasab[2]

1- Assistant professor of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Lecturer, Research Dept. Of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: September 30, 2019; Revise: October 30, 2019; Accept: October 30, 2019

Summary

The process of antibiotic resistance is divided into two categories: intrinsic and acquired resistance. In intrinsic resistance, the bacteria show resistance due to their specific properties to one or all of the antibiotics. But acquired resistance is caused by molecular changes in susceptible bacteria and, eventually, it causes antibiotic-resistant bacteria to emerge. That could be due to chromosomal mutations, transposons, or transmissible plasmids. Numerous genes control the different mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. The *tetA* and *tetB* genes are the major activating genes for tetracycline efflux mechanism, which decrease the concentration of tetracycline in bacterium. This study was performed to reconstruct the network of *tetA* and *tetB* genes using data and information in molecular databases. The reconstructed network clearly confirms that *tetA* and *tetB* genes have a direct role in tetracycline efflux. In association with other proteins, *tetB*, in addition to tetracycline efflux, plays a key role in the detoxification and antiport of a wide range of toxins, such as streptocycline and phenolic acids. Gene Anthology analysis showed that most of the genes involved in the tetracycline resistance process are membrane proteins and their molecular function is transporter.

Keywords: *Antibiotics, Bacteria, Gene Network, Tetracycline*