



## نقش سنجش حد نصاب در توکسین زایی کلستریدیوم پرفرینجنس

سیما آزادمنش<sup>۱</sup>، لیدا عبدالمحمدی خیابو\*<sup>۲</sup>، رامین باقری نژاد<sup>۳</sup>، بهجت مجیدی<sup>۴</sup>

- ۱- دانش آموخته دکتری تخصصی باکتری شناسی گیاهی، بخش تحقیق و تولید واکسن های باکتریایی بیهواری، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان ترویج آموزش توسعه کشاورزی، کرج، ایران
- ۲- دانش آموخته دکتری تخصصی باکتری شناسی، بخش تحقیق و تولید واکسن های باکتریایی بیهواری، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان ترویج آموزش توسعه کشاورزی، کرج، ایران
- ۳- دانش آموخته دکتری تخصصی باکتری شناسی، بخش تحقیق و تولید واکسن های باکتریایی بیهواری، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان ترویج آموزش توسعه کشاورزی، کرج، ایران
- ۴- دانش آموخته دکتری تخصصی بیوشیمی، بخش تحقیق و تولید واکسن های باکتریایی بیهواری، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، شعبه مشهد، سازمان ترویج آموزش توسعه کشاورزی، مشهد، ایران

\* نویسنده مسوول: دانش آموخته دکتری تخصصی باکتری شناسی- آدرس: کرج، خیابان شهید بهشتی، حصارک، کرج، البرز، ایران. صندوق پستی: ۳۱۹۷۵/۱۴۸ کد پستی: ۳۱۹۷۶۱۹۷۵۱ - تلفن تماس: ۰۲۶۳۴۵۰۴۰۰ - فکس: ۰۲۶۳۴۵۵۲۱۹۴ - ایمیل: [L.mohammadi@rvsri.ac.ir](mailto:L.mohammadi@rvsri.ac.ir)

دریافت مقاله: ۲۲ خرداد ۱۴۰۴، بازنگری: ۱۷ تیر ۱۴۰۴، پذیرش نهایی: ۲۰ تیر ۱۴۰۴

10.22034/nfvm.2025.529961.1290

### چکیده

کلستریدیوم پرفرینجنس، یک باکتری بی‌هوازی گرم‌مثبت و اسپوردار بوده که به‌طور گسترده در طبیعت پراکنده است. این باکتری قادر به ترشح توکسین‌های پروتئینی و آنزیم‌ها بوده که به بیماری‌زایی آن کمک می‌کند. تنظیم بیان ژن این توکسین‌ها تحت کنترل شبکه‌ای قرار دارد که ارتباطات سلول-سلول را برقرار می‌نماید. به‌منظور توکسین‌زایی، سلول‌های باکتریایی با تولید و تشخیص سیگنال‌های خارج‌سلولی، به‌ویژه از طریق مولکول‌های اختصاصی سیگنالینگ کوچک که به عنوان خودالقاگر شناخته می‌شوند، ارتباط برقرار می‌شود. این سیگنال‌ها در تولید توکسین‌ها و حدت بسیار مهم هستند. همچنین این سیستم در فرآیندهای اسپورزایی و تشکیل بیوفیلم در این باکتری نقش داشته که اهمیت نقش این سیستم را نشان می‌دهد. با توجه به اهمیت میزان تولید توکسین‌ها در سویه‌های واکسینال و مطالعات محدودی که تاکنون در زمینه تنظیم بیان توکسین‌های باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس انجام شده، در این مقاله نقش مهم سیستم‌های سنجش حد نصاب در تولید و ترشح توکسین‌های کلستریدیوم پرفرینجنس بر اساس مرور مطالعات موجود بررسی شده‌است. در نهایت، نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سیستم‌های تنظیمی سنجش حد نصاب از جمله Agt و سیستم دو جزئی VirS/VirR نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌های ویروالانس در کلستریدیوم پرفرینجنس دارند. همچنین، نقش مولکول‌های خودالقاگر در تنظیم فاکتورهای حدت و حفظ تعادل میکروبیوم روده، زمینه‌ساز توسعه اهداف درمانی نوین در مقابله با این پاتوژن خواهد بود. به‌طور کلی، تنظیم بیان ژن در کلستریدیوم پرفرینجنس پیچیده بوده و ژن‌های رمزگذار توکسین‌ها را نمی‌توان به‌صورت سیستم‌های کاملاً مجزا در نظر گرفت.

**واژگان کلیدی:** پپتیدهای خودالقاگر، تولید توکسین، سیستم سنجش حد نصاب، کلستریدیوم پرفرینجنس

مقدمه

جنس کلوستریدیوم اولین بار توسط پرازموفسکی در سال ۱۸۸۰ توصیف شد (۱). نام جنس از نام یونانی kloster (در لاتین *Clostridium*) به معنای دوکی شکل، گرفته شد. این جنس یکی از بزرگترین جنس‌های پروکاریوتی در شاخه‌ی Firmicutes است که حاوی بیش از ۳۰۰ گونه می‌باشد (۲). به دلیل ظرفیت اسپورزایی، باکتری‌های این جنس می‌توانند برای مدت طولانی در خاک به صورت بالقوه عفونت‌زا باقی بمانند که نشان‌دهنده‌ی خطر قابل توجه آنان برای جمعیت حیوانات و انسان است. یکی از مهم‌ترین گونه‌های آن کلوستریدیوم پرفرینجنس می‌باشد که به‌طور گسترده در طبیعت به‌ویژه در خاک و دستگاه گوارش انسان و حیوانات پراکنده است (۳). این گونه متشکل از باسیل‌های گرم‌مثبت اسپوردار بی‌هوازی اجباری است (۲). این باکتری تولید توکسین‌های قوی و متنوعی می‌کند (۴). از این توانایی در تولید توکسین‌های مختلف، در سیستم طبقه-

بندی آن استفاده شده به طوری که سویه‌های کلوستریدیوم پرفرینجنس بر اساس تولید توکسین‌های اصلی آلفا (CPA)، بتا (CPB)، اپسیلون (ETX)، یوتا (ITX)، انتروتوکسین (CPE) و NetB (توکسین شبه انتریت نکروتیک B) به هفت توکسینوتایپ (A تا G) تقسیم می‌شوند. جدول شماره ۱ توکسینوتایپ کلوستریدیوم پرفرینجنس بر اساس توکسین‌های اصلی را آورده‌است. مشخص شده‌است که ژن تولیدکننده‌ی توکسین آلفا (*plc*) و پرفرینگولایزین بر روی کروموزومی قرار دارد. اما ژن‌های تولیدکننده‌ی توکسین‌های بتا، اپسیلون و یوتا بر روی پلاسمیدهای بزرگ قرار گرفته‌اند (۳، ۵). ژن انتروتوکسین (*cpe*) نیز توسط یک پلاسمید بزرگ یا یک ترانسپوزون که ظاهراً وارد کروموزوم شده‌است، حمل می‌شود (۶). علاوه بر این توکسین‌های اصلی، کلوستریدیوم پرفرینجنس توکسین‌های دیگری مانند کاپا (کلاژناز، ژلاتیناز)، تتا یا پرفرینگولیزین (سیتولیزین) تولید می‌نماید (۷).

جدول ۱- توکسینوتایپ‌های کلوستریدیوم پرفرینجنس بر اساس توکسین‌های اصلی (۸)

Toxinotype	$\alpha$ (CPA)	$\beta$ (CPB)	$\epsilon$ (ETX)	$\tau$ (ITX)	Enterotoxin (CPE)	Necrotic enteritis B-like toxin (NetB)
A	+	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-
C	+	+	-	-	±	-
D	+	-	+	-	±	-
E	+	-	-	+	±	-
F	+	-	-	-	+	-
G	+	-	-	-	-	+

+ وجود توکسین

- عدم وجود توکسین

به‌خصوص در دام‌های پرورار بعد از تغییر ناگهانی رژیم غذایی می‌شود (۱۰، ۱۱). کلوستریدیوم پرفرینجنس تیپ B و C در ایجاد بیماری‌های دستگاه گوارش نظیر اسهال عفونی بره‌ها و پیگ‌بل نقش ایفا می‌کنند (۱۲). کلوستریدیوم پرفرینجنس تیپ A می‌تواند منجر به بیماری‌های شدیدی نظیر قانقاریای گازی و انتریت نکروتیک شود. در جدول ۲ بیماری‌های مرتبط با تیپ‌های مختلف کلوستریدیوم پرفرینجنس آورده شده‌است.

کلوستریدیوم پرفرینجنس می‌تواند باعث ایجاد بیماری‌های مختلفی در انسان و حیوانات شود. این باکتری بیش‌تر دستگاه گوارش و بافت‌های نرم را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در انسان، این باکتری یکی از علل شایع مسمومیت غذایی است و همچنین می‌تواند منجر به بیماری‌های شدیدتری نظیر قانقاریای گازی و انتریت نکروزان شود (۹). یکی از تیپ‌های مهم این باکتری، کلوستریدیوم پرفرینجنس تیپ D می‌باشد که عامل انتروتوکسمی یا قلوه‌نرمی در گوسفند، بز و کم‌تر گاو می‌باشد و سبب مرگ‌ومیر ناگهانی

جدول ۲- بیماری‌های ناشی از تیپ‌های مختلف جنس کلستریدیوم پرفرینجنس (۱۳، ۳)

عامل بیماری‌زا	نوع بیماری	میزبان‌ها
<i>Clostridium perfringens</i> type A	قانقاریای گازی و، انتروتوکسمی، انتريت، نکروتیک، گاستروانتریت،	انسان، نشخوارکنندگان، اسب، سگ
<i>Clostridium perfringens</i> type B	اسهال خونی بره‌ها	بره‌ها
<i>Clostridium perfringens</i> type C	انتريت هموراژیک و نکروتیک	دامهای جوان
	پیگ بل	انسان
	استراک	گوسفندان بالغ
<i>Clostridium perfringens</i> type D	انتروتوکسمی	نشخوارکنندگان
<i>Clostridium perfringens</i> type E	گاستروانتریت	گاو، خرگوش
<i>Clostridium perfringens</i> type F	مسمومیت غذایی، اسهال متعاقب مصرف آنتی‌بیوتیکها	انسان
<i>Clostridium perfringens</i> type G	انتريت نکروتیک	طیور

ارتباطات سلول به سلول و اثرات آن به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم بر روی رونویسی و ترجمه‌ی پروتئین‌ها در میکروارگانیسم‌ها توصیف شد. فرآیند سیستم سنجش حد نصاب اولین بار در سال ۱۹۷۰ توسط Nealson در باکتری‌های ویبریو فیشری و ویبریو هاروه‌ای گزارش گردید. این سیستم ارتباطی در توده‌های بیوفیلم به‌کار رفته‌است. از آن زمان به بعد، نقش این سیستم در مکانیسم‌هایی نظیر تنظیم بیان ژن در فرآیند تشکیل بیوفیلم مورد بررسی قرار گرفت (۱۵). سیستم سنجش حد نصاب یک سیستم وابسته به تراکم و جمعیت است (۱۶). این سیستم به‌منظور ارتباط و برای به اشتراک گذاشتن اطلاعات و در نتیجه "گفتگو" بین سلول‌های باکتریایی استفاده می‌شود (۱۷). در این سیستم ارتباط و گفتگوی بین سلول‌های باکتریایی توسط مولکول‌های کوچک پیام‌رسان (Small signaling molecule, SM) انجام می‌شود (۱۸). این مولکول‌های پیام‌رسان در صورت رسیدن به یک حد نصاب (آستانه معین) منجر به شروع رویدادهای آبخاری در داخل سلول‌های باکتریایی کرده که در نهایت باعث تنظیم بیان ژن می‌شود. از این‌رو نام "سنجش حد

در کلستریدیوم پرفرینجنس، سیستم سنجش حد نصاب (Quorum sensing, QS) به عنوان یکی از سیستم‌های تنظیم بیان ژنی شناخته شده‌است که در تولید توکسین‌های اصلی و فرعی توسط باکتری و تنظیم بیان ژن آن‌ها اهمیت دارد. همچنین این سیستم در کلستریدیوم پرفرینجنس در فرآیندهای اسپورزایی، حدت بیماری‌زایی (۳) و تشکیل بیوفیلم نقش دارد که اهمیت دو چندان این سیستم را نشان می‌دهد. با توجه به اهمیت میزان تولید توکسین‌ها در سویه‌های واکسینال و مطالعات محدودی که تاکنون در زمینه‌ی تنظیم بیان توکسین‌های باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس انجام شده، در این مطالعه تلاش شده نقش سیستم سنجش حد نصاب در تنظیم بیان توکسین‌ها تشریح شود.

**سیستم سنجش حد نصاب:** باکتری‌ها برای حفظ بقا در محیط‌های مختلف نیازمند درک شرایط محیطی و پاسخ به آن برای سازگاری با شرایط محیطی هستند که این عمل از طریق بیان ژن صورت می‌گیرد. مکانیسم مهم مرتبط با سازگاری باکتری با محیط اطراف، فرآیند سیستم سنجش حد نصاب می‌باشد. این سیستم، مکانیسم تنظیم

سپس تغییرات لازم در ساختار این پروپیتید *agrD* توسط پروتئین *agrB* (۲۶ کیلودالتون) ایجاد می‌گردد. همچنین ژن‌های یک سیستم دو جزئی، به نام *agrAC*، در پایین دست *agrBD* قرار دارند. *agrC* (۴۶ کیلودالتون) یک پروتئین حس‌گر برای پیتید *agrD* است و هنگامی که غلظت این پروتئین خودالقاگر (AIP) به یک حد آستانه برسد، *agrC* فعال می‌شود. *agrC* فعال، موجب فعال‌سازی فاکتور تنظیم‌کننده‌ی پاسخ، یعنی *agrA* هم‌خانواده‌ی خود می‌گردد. فعال‌سازی *agrA* تنظیم رونویسی در باکتری را به‌دنبال دارد. جایگاه‌های مشابه *agr* در ژنوم سایر پاتوژن‌های کلتوریایی از جمله کلتوریوم دیفیسیل، کلتوریوم بوتولینوم و کلتوریوم اسپروژنز وجود دارد. کلتوریوم دیفیسیل و کلتوریوم اسپروژنز دارای چهار اپرون *agr* مانند است. درحالی‌که کلتوریوم بوتولینوم دارای دو اپرون *agr* مانند است که ظاهراً یکی تولید اسپور و دیگری تولید نوروتوکسین بوتولینوم را کنترل می‌کند (۲۳). کلتوریوم پرفرینجنس سویه‌ی ۱۳ دارای دو اپرون *agrBD* می‌باشد و هیچ سیستم دو جزئی (TCS) - *agrC* (*agrA*) در بالادست یا پایین‌دست *agrBD* در ژنوم کلتوریوم پرفرینجنس سویه ۱۳ وجود ندارد (۲۴).

بررسی نقش سیستم *agr* در تولید توکسین در کلتوریوم پرفرینجنس در مطالعه‌ای که توسط **Ohtani** و همکاران بر روی یک سویه‌ی جهش‌یافته *agrBD* به نام TS۲۳۰ انجام شد، ملاحظه گردید که کشت آن بر روی بلاه آگار همولیز ضعیفی را ایجاد نموده، اما وقتی این سویه با سویه‌ی جهش‌یافته‌ی *VirSR* همولیز منفی که سیگنال پیتید را تولید می‌کند، همزمان کشت داده‌شد، مجدداً توانایی خود را برای ایجاد همولیز در محیط کشت بلاه آگار به‌دست آورده و در قسمت‌های تلاقی‌یافته بر روی محیط کشت همولیز مشاهده شد. این تحقیق نشان داد که سویه‌ی TS۲۳۰ سیگنال لازم برای تحریک تولید توکسین  $\theta$  (یا PFO) را از دست داده‌است، اما زمانی که سیگنال را از سویه‌ی دیگری دریافت کرد، توانست مجدداً تولید توکسین را فعال کند (۲۵). مطالعات متعددی در این زمینه

نصاب " برای توصیف این مکانیسم به‌کار گرفته‌شد (۱۹). این سیستم در باکتری‌های مختلف به‌وسیله انواع مولکول‌های ارتباطی عمل می‌کند که در زیر به تفصیل برای کلتوریوم پرفرینجنس بیان خواهد شد. سیستم سنجش حد نصاب در کلتوریوم پرفرینجنس شامل موارد زیر است:

۱- سیستم *agr* و پیتیدهای خودالقاگر

۲- سیستم دو جزئی *VirS/Vir R*

۳- سیستم خودالقاگر (AI) *The Autoinducer System*

کلتوریوم پرفرینجنس از دو سیستم سنجش حد نصاب بهره می‌برد. اولین سیستم از یک پیتید به عنوان مولکول سیگنال برای تنظیم بیان ژن استفاده می‌کند که سیستم تنظیم‌کننده ژن جانبی (Accessory gene regulator) *agr* نامیده می‌شود (۱۸). در بسیاری از مطالعات، سیستم تنظیم بیان ژن دو جزئی (Two-component regulatory System) *Vir* نیز جزء *agr* می‌باشد که از مجموعه‌های سیستم سنجش حد نصاب استفاده می‌کند (۱۶). سیستم دوم، *luxS* نام دارد که اولین بار در *Vibrio harveyi* شناسایی شد. سیستم *luxS* بین باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی مشترک بوده و در نتیجه تصور می‌شود از این سیستم به عنوان ابزاری برای برقراری ارتباط‌های بین‌گونه‌ای در باکتری استفاده می‌کنند (۲۰).

**سیستم *agr* و پیتیدهای خودالقاگر:** ژن‌های رمزگذار پروتئین‌های این سیستم در ژن جانبی (*agr*) قرار دارند (۳). در جایگاه *agr* چهار ژن وجود دارد که عبارت‌اند از *agrB*، *agrD*، *agrC* و *agrA*.

ژن *agrA* تنظیم‌کننده‌ی نسخه‌برداری، ژن *agrB* پروتئین غشایی لازم برای ترشح اتوپیتید و *agrC* حسگر غشایی برای دریافت سیگنال خودالقاگر را رمزگذاری کرده و *agrD* نیز پیش‌ساز اتوپیتید را می‌سازد (۲۱). سیستم *agr* یک سیستم ارتباطی در باکتری‌های گرم‌مثبت به‌ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس* است (۲۲). در *استافیلوکوکوس اورئوس*، پروپیتید خودالقاگر از ژن *agrD* تولید شده که

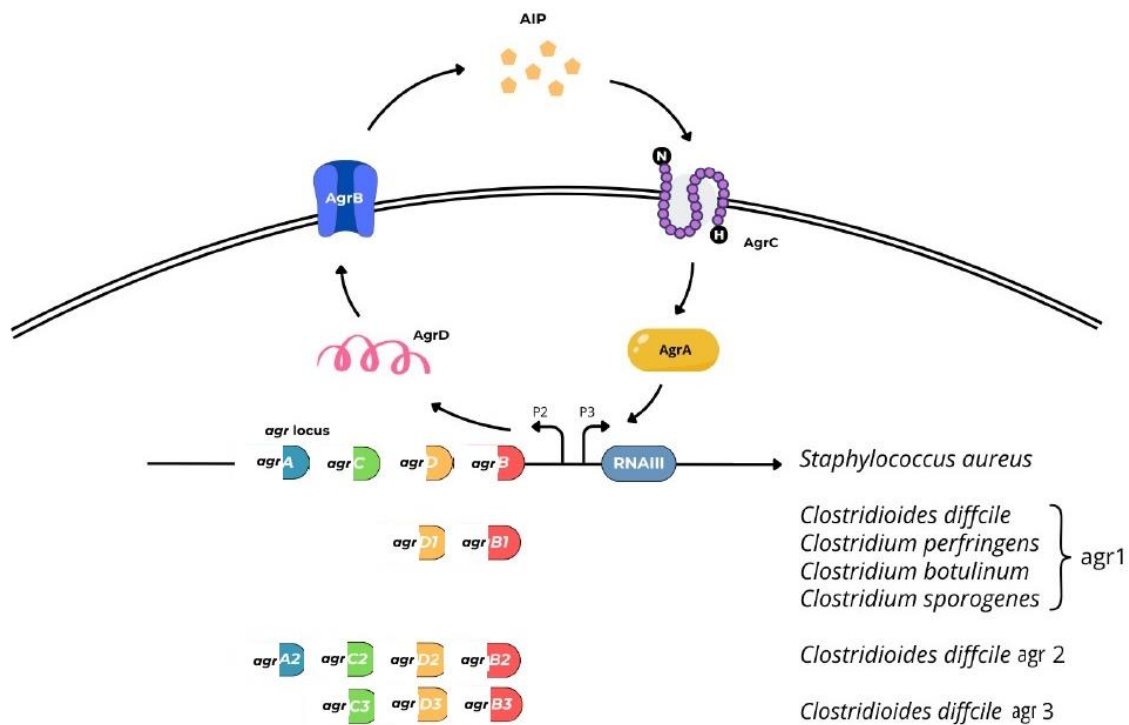
## نقش سنجش حد نصاب در توکسین زایی کلاستریدیوم پرفرینجنس

معکوس کرد و تأیید کرد که توقف یا کاهش تولید توکسین به دلیل غیرفعال شدن جایگاه *agr* بود (۲۷). **Ma** و همکاران و **ویدال** و همکاران در مطالعاتشان نشان دادند که پپتید ۸ آمینواسیدی مشتق شده از پپتیدهای AgrD با نام R-۸ سبب افزایش تولید توکسین بتا می‌شود (۲۵). در مطالعه‌ی دیگری پس از بررسی اثر پپتیدهای سنتز شده‌ی پنج آمینواسیدی بر روی سویه‌های جهش‌یافته CN۱۷۹۵ تیپ B (*agrB* null mutants) یا CN۳۶۸۵ تیپ C که فاقد قدرت تولید پروتئین‌های AgrD و AgrB می‌باشد (این پروتئین‌ها تحت یک اوپران سنتز می‌شوند) مشاهده کردند که در هر دو سویه‌ی تحت اثر پپتید پنج آمینواسیدی حلقوی، سیگنالینگ به خوبی القا گردید در حالی که پپتیدهای شش اسید آمینه‌ای در بعضی از سویه‌ها قادر به ممانعت از تولید توکسین بودند (۲۸). همچنین توانایی حس سیگنال‌های پپتید خودالقاگر در سویه‌های مختلف باکتری، متفاوت است. ویدال در سال ۲۰۱۲ و **Ma** در سال ۲۰۱۵ گزارش نمودند که سویه CN۳۶۸۵ سیگنال‌های پپتید خود القاءگر سایر تیپ‌ها (تیپ‌های A, B, C و D) را به خوبی حس کرده، در حالی که CN۱۷۹۵ حتی پپتید خودالقاگر خود را به سختی حس کرد (۲۵, ۲۸). **Lyon** و همکاران نشان دادند که VirSR با AgrAC / استافیلوکوکوس اورئوس مطابقت دارد. رونویسی RNAlII را تنظیم می‌کند که در استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک عامل کلیدی سیستم *agr* است که بیان بسیاری از ژن‌ها را تنظیم می‌کند (۱۸). به نظر می‌رسد نحوه‌ی تنظیم بیان ژن توسط RNAlII با VR-RNA در کلاستریدیوم پرفرینجنس شباهت دارد. البته تفاوت در نحوه‌ی قرارگیری آن در ژنوم مشاهده می‌شود. به طوری که در استافیلوکوکوس اورئوس، ژن‌های تنظیم‌کننده در ژنوم جمع شده‌اند، اما در کلاستریدیوم پرفرینجنس، *virS/virR* VR-RNA و *agrBD* در ژنوم پراکنده هستند. در استافیلوکوکوس اورئوس پپتید سیگنالی که بیان ژن را تحریک می‌کند توسط *agrD* تولید می‌شود. در استافیلوکوکوس اورئوس بسته به توالی‌های اسید آمینه

در دهه ۱۹۷۰ انجام گردید که به توانایی تولید توکسین‌ها توسط کلاستریدیوم پرفرینجنس مربوط می‌شود. در این مطالعات، دو نوع سویه معرفی شدند: یکی با وجود دارا بودن ژن توکسین‌تتا، توکسین تولید نمی‌کرد و در کشت هم‌زمان نیز فعال نمی‌شد. سویه‌ی دوم، علی‌رغم نداشتن توکسین، در حضور سایر سویه‌ها توانست توکسین تولید کند. با توجه به این یافته‌ها، این تصور به ذهن رسید که باید یک سیگنال برای تحریک تولید توکسین تتا در کلاستریدیوم پرفرینجنس وجود داشته‌باشد. به نظر می‌رسد سیستم *agr* ارتباط تنگاتنگی با این پدیده دارد (۲۶). در مطالعه **Ohtani** در سال ۲۰۱۶ عنوان شد در سویه‌ی جهش‌یافته‌ی TS۲۳۰، رونویسی از ژن‌های *colA plc* و *pfoA* کاهش یافته اما با افزودن ژن *agrBD* مجدداً رونویسی فعال شد. به عبارت دیگر سویه‌ی نوع وحشی یا سویه‌ی مکمل می‌تواند ژن‌های مسئول رونویسی توکسین را در سویه‌ی جهش‌یافته TS۲۳۰ تحریک کند. این داده‌ها نشان داد که ناحیه‌ی *agrBD* در باکتری کلاستریدیوم پرفرینجنس مسئول تولید یک سیگنال است. آزمایشی دیگر با استفاده از سویه‌ی جهش‌یافته‌ی دوگانه‌ی *agrBD-virSR* نشان داد که سویه‌ی وحشی ۱۳ کلاستریدیوم پرفرینجنس نمی‌تواند بیان ژن تولید توکسین را تحریک کند. این نکته نشان می‌دهد اگرچه هیچ سیستم دو جزئی در اطراف ژن *agrBD* وجود ندارد ولی VirS به عنوان یکی از پروتئین‌های حس‌گر برای سیگنال پپتید وجود دارد (۲۴). در گزارش **Li** بیان شد *agrB* در سویه‌ی ۵۶۰۳ F (سویه‌ی بیماری‌زای غیرگوارشی انسان) می‌تواند تولید انتروتوکسین و توکسین بتا ۲ را به طور مثبت تنظیم کند. مطالعه او نشان داد در این سویه‌ی جهش‌یافته میزان تولید توکسین آلفا و پرفرنگولیزین O در طول رشد رویشی کاهش یافت. نکته مهم دیگر این است که وقتی سویه در محیط اسپورزایی کشت داده‌شد، سویه‌ی جهش‌یافته نتوانست به طور مؤثری اسپور تشکیل دهد و مانع تولید انتروتوکسین نیز گردید. افزودن *agrB* تا حدی یا به طور کامل، تمام تغییرات فنوتیپی در سویه‌ی جهش‌یافته را

وجود ندارد (۲۹). که در شکل ۱ نشان داده شده است.

AgrD در چهار گروه طبقه‌بندی می‌شود. در مقابل، چنین تنوع توالی اسید آمینه در AgrD کلاستریدیوم پرفرینجنس



شکل ۱- ساختار ژنتیکی و سازماندهی سیستم سیگنالینگ Agr با واسطه پپتید خودالقاگر در استافیلوکوکوس اورئوس، کلاستریدیوم دیفیسیل و کلاستریدیوم spp (۲۰)

همچنین نشان داده شد که سیستم agr برای ایجاد آنتریت نکروزان توسط سویه‌ی (CN۳۶۸۵) کلاستریدیوم پرفرینجنس تیپ B مورد نیاز بود (۲۵). یافته‌های فوق نشان داد که سیستم agr می‌تواند تولید توکسین بتا را در هر دو سویه‌ی کلاستریدیوم پرفرینجنس B و C تنظیم کند. در سویه CN۳۷۱۸ تیپ D نیز سیستم agr نقش مهمی در حدت سویه داشت، ولی تولید توکسین اپسیلون در سویه‌ی کلاستریدیوم پرفرینجنس تیپ B تحت تنظیم سیستم agr قرار نگرفت (۳۱). جالب توجه است سیگنالی که از agrD تولید می‌شود، سیگنالی برای VirS است. با این حال، در تنظیم تولید توکسین اپسیلون در سویه‌ی کلاستریدیوم پرفرینجنس تیپ D CN۳۷۱۸، تولید توکسین اپسیلون توسط سیستم agr تنظیم شد، نه توسط سیستم VirS/VirR. این اولین گزارشی بود که نشان می‌داد سیستم

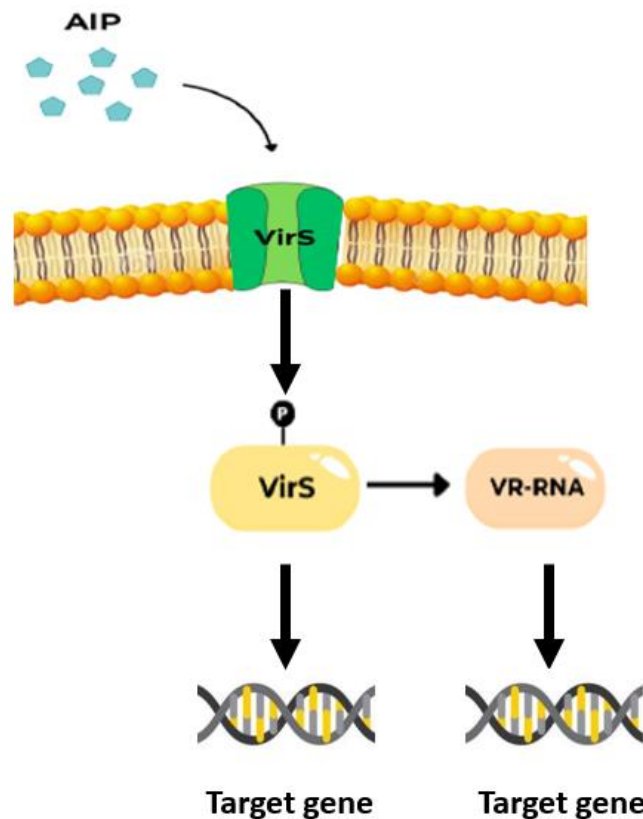
همان‌طور که در بالا اشاره شد تولید توکسین‌های کلاستریدیوم پرفرینجنس تحت کنترل سیستم Agr بسته به سویه‌های باکتری و منشاء سلولی، متفاوت عمل می‌کند. مثلاً سلول Caco-۲ که از روده‌ی بزرگ منشاء گرفته است و سلول MDCK از کلیه‌ی سگ نشأت گرفته است ممکن است، پاسخ متفاوت داشته باشند. (۶). مطالعه‌ی Chen نشان داد در سویه‌ی جهش یافته‌ی کلاستریدیوم پرفرینجنس فاقد agrB، میزان تولید توکسین بتا کاهش یافته است. با بازگردانی ژن agrB در سویه‌های کلاستریدیوم پرفرینجنس تیپ B CN۱۷۹۳ و تولید توکسین بتا مجدداً فعال شد، اما جهش در ژن agrB تاثیری در تولید توکسین اپسیلون (ETX) و توکسین بتا ۲ (CPB۲) نداشت (۳۱). آزمایش‌ها بر روی سویه CN۳۶۸۵ تیپ C نیز نشان داد که تولید توکسین بتا توسط سیستم agr تنظیم شد.

## نقش سنجش حد نصاب در توکسین زایی کلستریدیوم پرفرینجنس

دخیل هستند (۳۶). در حالی که مطالعات Hassan و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد که ژن‌های *pfoA* و *netB* به صورت مستقیم تنظیم می‌شوند (۳۷). تحقیق Mehdi-zadeh و همکاران نشان داد که *VirS* برای اتصال سیگنال پپتید حیاتی است، مشتق از AgrD است. (۸) *VirS/R* توسط سیگنالی فعال می‌شود که عامل اتوفسفوریلاسیون *VirS* و به دنبال آن انتقال فسفات به *VirR* است (۳۸). *VirR* فسفریله شده مستقیماً بیان ژن *pfoA* و *netB* را تنظیم می‌کند. همچنین *VirS/VirR* به طور غیرمستقیم بیان ژن‌های *cpa* و *cpb* را با فعال کردن تولید یک RNA تنظیمی کوچک به نام VR-RNA کنترل می‌کند. آبخار *VirS/VirR-VR-RNA* با تنظیم مثبت، پاتوژنز را کنترل می‌کند. همان‌طور که در بالا اشاره شد تنظیم بیان مستقیم توسط *VirS/R* انجام شده در حالی که در تنظیم غیرمستقیم توسط VR-RNA انجام می‌شود که در شکل ۲ نشان داده شد.

agr همیشه سیستم *VirS/VirR* را فعال نمی‌کند (۳۲).

**سیستم دو جزئی *VirS/VirR*: تولید بسیاری از توکسین‌ها که توسط کلستریدیوم پرفرینجنس در طول رشد ریشی انجام می‌شود، تا حدی توسط سیستم تنظیمی دو جزئی *VirS/VirR* کنترل می‌شود (۶، ۲۴). در این سیستم *VirS* یک هیستیدین کیناز و *VirR* تنظیم‌کننده‌ی پاسخ است (۳۳). در سیستم دو جزئی پیام یا سیگنال، شرایط محیطی است. مطالعات پیشین در این باکتری نشان داده که ژن‌های توکسین آلفا (*plc*)، ژن پرفرینگولیزین O (*pfoA*) و کلاژناز، (*cola*) (۳۴)، *NetB* و توکسین بتا (*cpb*) توسط سیستم تنظیمی دو جزئی *VirS/VirR* (۳۵). در سطح رونویسی تنظیم می‌شود (۳۶). تحقیقات Ba-Thein و همکاران در سال ۱۹۹۶ نشان داد که این سیستم به طور مستقیم بیان *pfoA* را تنظیم کرد اما بیان ژن‌های توکسین-های دیگر را مستقیماً تنظیم نکرده و به احتمال زیاد شبکه‌ی تنظیمی شامل تنظیم‌کننده‌های ثانویه در این امر**



شکل ۲- تنظیم بیان مستقیم و غیرمستقیم ژن توسط سیستم دو جزئی *VirS/VirR* (۳۰)

سیستم خود القاگر (AI) *The Autoinducer System* سیستم خود القاگر (autoinducer) یک سیستم رایج در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است (۳۹) که توسط ترکیباتی به نام خود القاگرها (AIP: autoinducing peptide) صورت می‌گیرد (۴۰). خود القاگرها در محیط به عنوان نمایشگر تراکم جمعیت باکتری‌ها افزایش می‌یابند و باکتری‌ها این اطلاعات را برای تغییر در بیان ژن‌ها، ردیابی می‌کنند. باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی از سیستم‌های سنجش حد نصاب متفاوتی استفاده می‌کنند (۴۱، ۴۳). سیستم سنجش حد نصاب با واسطه‌ی پپتید حلقوی، اغلب در باکتری‌های گرم مثبت با GC پایین یافت می‌شود. هنگامی که غلظت خود القاگرها در خارج سلول زیاد شود، به یک غشای گیرنده هیستیدین کیناز دو جزئی متصل می‌شوند (۴۴، ۴۵) معمولاً اتصال به گیرنده‌ی کیناز را فعال نموده که سبب اتوفسفریله شدن و اتصال فسفات به تنظیم‌کننده‌ی پاسخ هم‌جنس (Cognate) و نهایتاً رونویسی ژن‌ها در رگولون فعال می‌شود. گیرنده‌ی خود القاگرها در باکتری‌های گرم مثبت در غشای سیتوپلاسمی آنهاست. در برخی موارد در باکتریایی گرم مثبت، خود القاگرها به داخل سیتوپلاسم سلول منتقل شده که در آن‌جا برای تعدیل فعالیت با فاکتور رونویسی تعامل دارند. این امر به نوبه‌ی خود تغییرات در بیان ژن را تعدیل می‌کند (۴۰).

در باکتری‌های گرم منفی، مولکول سیگنال، آسیل هموسرین لاکتون (AHL) است (۴۶). آسیل هموسرین لاکتون منسوب به مولکول خود القاگر نوع یک هستند. این باکتری‌ها دارای خود القاگرها-گره‌هایی از جنس غیر پپتیدی می‌باشند که دارای یک هسته آسیل هموسرین لاکتون بوده که یک زنجیره‌ی کربنی به آن متصل می‌شود (۳۰). این مولکول‌ها ممکن است دارای گروه‌های متفاوتی در زنجیره‌ی آسیلی خود باشند و همچنین طول زنجیره‌های آسیلی متفاوتی داشته باشند. بنابراین، مولکول‌های سیگنال متفاوت آسیل هموسرین لاکتون متفاوتی وجود دارد، به عنوان مثال، oxododecanoyl-L-homoserine lactone یا hydroxydodecanoyl-L-homoserine (۴۷). آسیل هموسرین لاکتون از S-آدنوزین متیونین

سیستم خود القاگر ۲ یکی دیگر از سیستم‌های رایج در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. تقریباً نیمی از باکتری‌هایی که توالی ژنوم آنها در پایگاه داده وجود دارد، دارای ژن *luxS* هستند (۵۰). *LuxS* (متالوآنزیم همودایمر کدگذاری شده توسط ژن *luxS*) سنتز کننده‌ی خود القاگر ۲ است. ساختار شیمیایی خود القاگر ۲ از مشتقات فورانوزیل بورات دی استر است که پیش ساز آن ۴-۵ دی هیدروکسی ۲-۳ پنتانندیون (DPD) می‌باشد.

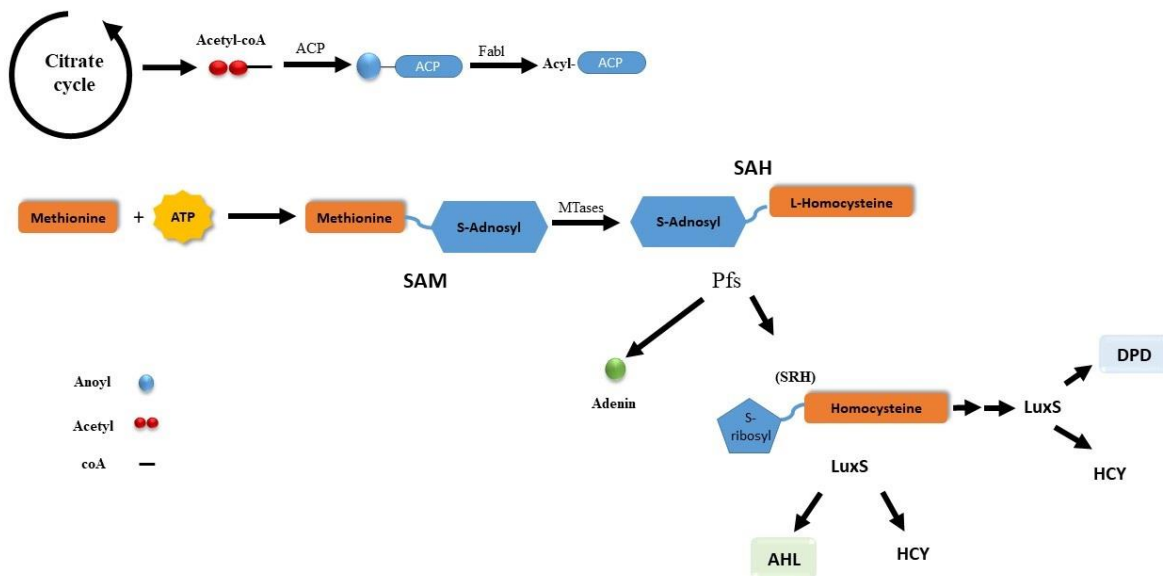
#### مسیرهای بیوشیمیایی مربوط به تولید خود القاگر

۴: DPD از SAM بوسیله *LuxS* سنتز می‌شود (۵۱). بنابراین SAM سوبسترای برای سنتز آسیل هموسرین لاکتون و خود القاگر ۲ است. به‌طور خلاصه، SAM که بستری برای انتقال متیل است، از بیوسنتز ال-متیونین و ATP تولید می‌شود. این واکنش توسط متیونین آدنوزیل

## نقش سنجش حد نصاب در توکسین زایی کلستریدیوم پرفرینجنس

دست‌خوش تغییرات بیشتری برای تشکیل مولکول فعال خودالقاگر ۲ می‌شود (۵۲). تصویر ۳ مراحل تولید AHL و DPD را نشان داده که توسط آنزیم‌های مختلف کاتالیز می‌شود. خودالقاگر ۲ در باکتری‌های گرم‌منفی به یک پروتئین متصل‌شونده پری‌پلاسمیک (LuxP) متصل شده سپس به یک کیناز (LuxQ) متصل می‌شود. در نهایت یک آبشار دی‌هیدروفسفریلاسیون را با تبدیل کیناز به فسفاتاز به راه می‌اندازد و نهایتاً بیان ژن هدف را تنظیم می‌کند (۵۳).

ترانسفراز (MAT) صورت می‌گیرد که محصول ژن *metK* می‌باشد. SAM از طریق از دست دادن گروه متیل با واسطه متیل ترانسفرازها (MTases) به S-adenosyl-L- (SAH) homocysteine تبدیل می‌شود. دو مسیر را طی می‌نماید: (a) فرآیند تک مرحله‌ای به هموسیستئین (HCY)، توسط SAH-هیدرولاز یا (b) فرآیند دو مرحله‌ای. فرآیندی که توسط آنزیم‌های Pfs و LuxS کاتالیز می‌شود. نوکلئوزیداز Pfs به‌طور غیرقابل برگشتی SAH را به آدنین و SRH می‌شکند. LuxS، SRH را به DPD و HCY تبدیل می‌کند. LuxS



شکل ۳- نحوه تولید آسیل هموسرین لاکتون و ۴-۵ دی هیدروکسی ۲-۳ پنتانادیون

پرفرینجنس باعث تحریک لومینسانس سویه *V. i* ۱۷۰۱ *V. harveyi* BB شد، اما در سویه‌ی جهش‌یافته‌ی ۱۳ کلستریدیوم پرفرینجنس، LuxS نتوانست لومینسانس را تحریک کند (۲۲). این نتایج نشان داد که ژن *luxS* مسئول تولید سیگنالی است که لومینسانس *V. harveyi* وابسته به خودالقاگر ۲ را تحریک می‌کند. جهش *luxS* در سطح رونویسی *pfoA* را می‌توان با افزودن سوپرناتانت باکتری وحشی یا *اشرشیا کلی* DH5α حامل ژن *luxS*

بررسی نقش سیستم خودالقاگر در تولید توکسین در کلستریدیوم پرفرینجنس در کلستریدیوم پرفرینجنس، سیستم خودالقاگر ۲ (AL<sub>2</sub>) در فاز میانی رشد لگاریتمی، بیان ژن‌های مرتبط با تولید توکسین را افزایش می‌دهد. *luxS* رونویسی *pfoA* و تولید توکسین تتا را فعال می‌کند و احتمالاً بر تنظیم پس از رونویسی توکسین‌های آلفا و کاپا تأثیر می‌گذارد (۲۴). در تحقیقی سوپرناتانت کشت سویه‌ی ۱۳ کلستریدیوم

کلستریدیوم پرفرینجنس مجدداً فعال کرد.

نقش خودالقاءگر ۲ در کلستریدیوم پرفرینجنس نتایج مطالعه‌ی پیشین نشان داد که ژن *luxS* برای تولید خودالقاءگر ۲ در کلستریدیوم پرفرینجنس ضروری است (۱۷).

خودالقاءگر ۲ ممکن است عامل مهمی برای حفظ تعادل فلور طبیعی و باکتری‌های بیماری‌زا باشد. علاوه بر این، از آنجا که گزارش شده است که خودالقاءگر ۲ بسیاری از فاکتورهای ویروالانس را تنظیم می‌کند، لذا *luxS* می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی در بیماری‌های عفونی در نظر گرفته شود (۵۴).

**خود خاموش‌سازی سنجش حد نصاب (sQQ)**  
(self-quorum quenching): به مکانیسم‌هایی که باعث توقف ارتباطات بین سلولی در باکتری‌ها می‌شود، خود خاموش‌سازی سنجش حد نصاب اطلاق می‌شود. ترکیباتی که مهارکننده‌ی سنجش حد نصاب می‌باشند را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد؛ مهارکننده‌های طبیعی و مهارکننده‌های سنتتیک. در کلستریدیوم پرفرینجنس بعضی از مواد تولیدشده در حین رشد باکتری نظیر اسیدها باعث خودخاموش‌سازی می‌شوند. **Adachi** و همکاران در مطالعه‌ای متوجه شدند که بیان ژن *pfoA* تا اواخر فاز رشد (late-log growth phase) افزایش یافت ولی بیان آن پس از زمانی خاموش گردید، که نشان‌دهنده‌ی وجود یک سیستم خود خاموش‌سازی حد نصاب است. همچنین سوپرناتانت در کشت فاز ثابت، بیان ژن‌هایی که توسط سیستم دوجزئی VirSR تنظیم می‌شوند را سرکوب کرد. سیستم خود خاموش‌سازی نسبت به حرارت پایدار بوده و پس از فیلتراسیون از طریق غشای اولترا فیلتراسیون نیز این فعالیت همچنان وجود داشت، که نشان می‌دهد مولکول‌های کوچک به عنوان عوامل خود خاموش‌سازی عمل می‌کنند. علاوه بر این، خود خاموش‌سازی توسط اسید استیک و اسید بوتیریک خالص در کشت فاز ثابت، القا شد؛ که نشان داد اسیدهای آلی تولید شده توسط کلستریدیوم پرفرینجنس در خود خاموش‌سازی نقش دارند. از سوی دیگر در کشت با pH کنترل شده، خود خاموش‌سازی تا حد زیادی کاهش یافت. به‌طور کلی، بیان ژن‌های عوامل حدت کلستریدیوم پرفرینجنس در سیستم خود خاموش‌سازی توسط متابولیت‌های اسیدی کاهش می‌یابد. این امکان

وجود استراتژی ضد ویروالانس با کنترل pH را نشان می‌دهد (۱۶). درصنعت از مهار فرآیند سنجش حد نصاب به عنوان اهداف درمانی استفاده می‌شود.

### بحث

به جهت بقا و دوام در محیط‌های مختلفی همچون خاک، آب، مدفوع، روده و ماهیچه، سیستم‌های تنظیم‌کننده‌ی پیچیده‌ای برای تنظیم بیان ژن‌های توکسین‌زا در کلستریدیوم پرفرینجنس وجود دارد. این باکتری حداقل دو سیستم سنجش حد نصاب دارد (۱۷). اولین سیستم سنجش حد نصاب تا حدی شبیه سیستم Agr / استافیلوکوکوس اورئوس است، که *agr* به عنوان یک اپرون متشکل از چهار ژن کدکننده‌ی پروتئین‌های AgrA, B, C و D می‌باشد (۵۵). تحقیقات **Vidal** و همکاران نشان داد که اپرون *agr* در سویه‌ی ۱۳ کلستریدیوم پرفرینجنس جهش‌یافته تولید توکسین آلفا را کاهش داد. با افزودن سوپرناتانت سویه‌ی وحشی تولید توکسین مجدداً فعال شد (۳۳، ۵۶)، بنابراین به‌نظر می‌رسد تنظیم بیان این ژن تحت کنترل سیستم Agr قرار دارد. از سوی دیگر ژن رمزگذاری شده انتروتوکسین نیز تحت کنترل همین سیستم قرار داشته و در مرحله‌ی اسپورزایی تنظیم می‌شود (۲۷). در تحقیقات **Ohtani** و همکاران، بر روی توکسین‌های فرعی کاپا و تتا مشخص شد که تولید آن‌ها نیز تحت کنترل سیستم Agr قرار داشته و با افزودن سوپرناتانت سویه‌ی وحشی تولید توکسین مجدداً فعال شد (۳۳). توکسین بتا ۲ نیز توسط این ژن بیان شده و میزان آن تحت کنترل این ژن افزایش می‌یابد (۲۷). در حالی که در مطالعه **Chen** و همکاران در سویه‌های کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ B CN1۷۹۵ و ۱۷۹۳CN جهش‌یافته در ژن *agrB* تغییری در تولید توکسین بتا ۲ مشاهده نشد (۳۱) که به‌نظر می‌رسد تفاوت پاسخ به‌علت سویه‌های متفاوت باشد. برای توکسین بتا بیان ژن در کنترل این سیستم بوده و با حذف آن میزان تولید توکسین کاهش یافت (۲۸، ۳۱). **Chen** در سال ۲۰۱۱ گزارش کرد که تولید توکسین اپسیلون در کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ D تحت کنترل همین

## نقش سنجش حد نصاب در توکسین‌زایی کلاستریدیوم پرفرینجنس

تولید توکسین نیز گزارش شده است (۶۰). تولید توکسین‌ها توسط متابولیت‌ها یا عوامل سیگما جایگزین در کلاستریدیوم پرفرینجنس در مقایسه با کلاستریدیوم دیفیسیل کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. مطالعات تنظیم بیان ژن در این باکتری به درک بهتر بیماری‌زایی آن کمک می‌کند. ضمناً می‌تواند در اتخاذ تصمیمات بهتر جهت پیشگیری و درمان بیماری‌های ناشی از کلاستریدیوم پرفرینجنس نیز راه‌گشا باشد. لذا تحقیقات گسترده‌تر در مورد مکانیسم‌های تنظیمی و پروانس کلاستریدیوم پرفرینجنس بسیار مورد نیاز است.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد تنظیم بیان ژن‌های توکسین‌زا در کلاستریدیوم پرفرینجنس نتیجه‌ی تعامل چندین مسیر سیگنال‌دهی از جمله سیستم‌های Lux و Agr باشد. این تعاملات نه تنها در درک بیماری‌زایی این باکتری نقش کلیدی دارند، بلکه می‌توانند مبنایی برای طراحی استراتژی‌های نوین ضد باکتریایی و واکسن‌سازی مبتنی بر اختلال در سیستم‌های سنجش حد نصاب فراهم آورند. از سوی دیگر با توجه به مقاومت آنتی‌بیوتیکی که امروزه یکی از مهم‌ترین دغدغه‌ها در درمان شده است شاید بتوان نسل جدیدی از آنتی‌بیوتیک‌ها را به‌خصوص در موارد حساسیت دارویی در آینده متصور شد که بر مبنای مهار سیستم سنجش حد نصاب طراحی شده باشند. همچنین شاید بتوان از این مهارکننده‌ها به‌صورت مکمل با دیگر داروها استفاده کرد تا پاسخ مناسب‌تری به درمان داده‌شود.

سیستم بود (۳۲). اگرچه در تحقیقات بعدی بر روی همین سویه مشخص شد که سیستم Agr بر روی بیان ژن تولید توکسین اپسیلون نقشی ندارد (۵۷) که مطالعه Chen را زیر سوال می‌برد.

دومین سیستم سنجش حد نصاب در کلاستریدیوم پرفرینجنس با واسطه *luxS* می‌باشد که بیان توکسین‌ها را از طریق رونویسی و پس از رونویسی کنترل می‌کند. سیستم *luxS* رونویسی ژن توکسین *pta* (*pfoA*) را افزایش داده و یک اثر تحریکی جزئی بر رونویسی ژن‌های توکسین آلفا (*plc*) و توکسین کاپا (*cola*) دارد. (۵۸، ۱۷).

همان‌طور که اشاره شد تولید توکسین‌های کلاستریدیوم پرفرینجنس تحت کنترل سیستم سنجش حد نصاب نظیر *agr* در سویه‌های مختلف باکتری، متفاوت است. مطالعه Vidal در سال ۲۰۰۹ که بر روی کلاستریدیوم پرفرینجنس تیپ D انجام شد افزایش قابل توجهی در بیان ژن *etx* و تولید توکسین اپسیلون نشان داد، اما بیان ژن *cpa* و افزایش تولید توکسین آلفا مشاهده نشد. درحالی‌که در کلاستریدیوم پرفرینجنس تیپ C CN۳۶۸۵ باعث افزایش قابل توجهی در بیان ژن *cpa* و تولید توکسین آلفا ملاحظه گردید (۵۹).

اگرچه بسیاری از سیستم‌های تنظیمی ژن‌های توکسین‌زا در باکتری کلاستریدیوم پرفرینجنس شناسایی شده‌اند، اما در مقایسه با سایر عوامل بیماری‌زا هنوز دانش محدودی در مورد نحوه‌ی تنظیم بیان ژن‌های توکسین‌زای این باکتری در اختیار داریم. در سایر کلاستریدیاهای بیماری‌زا به عنوان مثال، کلاستریدیوم دیفیسیل و کلاستریدیوم بوتولینوم گزارش شده است که اسیدهای آمینه خاصی در سرکوب تولید توکسین نقش ایفا می‌کنند و اهمیت وجود فاکتورهای سیگمای جایگزین برای تنظیم

## References

- 1- **Salvarani FM, Vieira EV.** Clostridial Infections in Cattle: A Comprehensive Review with Emphasis on Current Data Gaps in Brazil. *Animals*. 2024;14(20):2919.
- 2- **Darkoh C, Asiedu GA.** Quorum sensing systems in clostridia. In: Kalia, V. (eds) Quorum Sensing vs Quorum Quenching: A Battle with No End in Sight: Springer. 2014; 133-54.
- 3- **Uzal FA, Freedman JC, Shrestha A, Theoret JR, Garcia J, Awad MM, et al.** Towards an understanding of the role of *Clostridium perfringens* toxins in human and animal disease. *Future Microbiol.* 2014;9(3):361-77.
- 4- **McClane BA, Uzal FA., Fernandez-Miyakawa M., Lyerly D., Wilkins T D.** The enterotoxigenic clostridia: The prokaryotes.; 2004. 698–752 p.
- 5- **Rood JI, Adams V, Lacey J, Lyras D, McClane BA, Melville SB, et al.** Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. *Anaerobe*. 2018;53:5-10.
- 6- **Chen J, Ma M, Uzal FA, McClane BA.** Host cell-induced signaling causes *Clostridium perfringens* to upregulate production of toxins important for intestinal infections. *Gut Microbes*. 2014;5(1):96-107.
- 7- **Abdolmohammadi Khiav L, Zahmatkesh A.** Vaccination against pathogenic clostridia in animals: A review. *Trop Anim Health Prod*. 2021;53(2):284.
- 8- **Mehdizadeh Gohari I, A. Navarro M, Li J, Shrestha A, Uzal F, A. McClane BJV.** Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens*. *Virulence*. 2021;12(1):723-53.
- 9- **McDonel JL.** Toxins of *Clostridium perfringens* types A, B, C, D, and E. *Pharmacol Ther.* Pergamon Press, Oxford; United Kingdom. 1986.
- 10- **Abdolmohammadi Khiav L, Emadi A, Zahmatkesh A.** A simple method for purification of epsilon toxin of *Clostridium perfringens* type D for serum neutralization assay. *J. Microbiol. Methods*. 2022;193:106395.
- 11- **Asadi A, Abdolmohammadi Khiav L, Emadi A, Dadar M.** Evaluation of humoral immune responses against *C. perfringens* epsilon toxin in Iranian sheep and goats after vaccination. *VAS*. 2023;21:100305[In Persian].
- 12- **Abdolmohammadi Khiav L, Paradise A.** Molecular and toxigenic characteristics of *Clostridium perfringens* type B isolates from sheep and lamb. *J Vet Res*. 2021.
- 13- **Uzal FA, Vidal J, McClane BA, Gurjar AA.** *Clostridium perfringens* toxins involved in mammalian veterinary diseases. *Open Toxinology*. 2010;2:24.
- 14- **Nealson KH, Platt T, Hastings JW.** Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol*. 1970;104(1):313-22.
- 15- **Irie Y, Parsek MR.** Quorum sensing and microbial biofilms. In: Romeo, T. (eds) Bacterial Biofilms. Current Topics in Microbiology and Immunology, Springer, Berlin, Heidelberg. 2008; 322. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_4)
- 16- **Adachi K, Ohtani K, Kawano M, Singh RP, Yousuf B, Sonomoto K, et al.** Metabolic dependent and independent pH-drop shuts down VirSR quorum sensing in *Clostridium perfringens*. *J Biosci Bioeng*. 2018;125(5):525-31.
- 17- **Ohtani K, Hayashi H, Shimizu T.** The luxS gene is involved in cell–cell signalling for toxin production in *Clostridium perfringens*. *Mol Microbiol*. 44(1), 2002;44(1):171-9.
- 18- **Lyon GJ, Novick RP.** Peptide signaling in *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. *Peptides*. 2004;25(9):1389-403.
- 19- **Bassler BL.** How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr. Opin. Microbiol*. 1999;2(6):582-7.
- 20- **Ohtani K, Shimizu T.** Regulation of toxin production in *Clostridium perfringens*. *Toxins*. 2016;8(7):207.
- 21- **Wuster A, Babu MM.** Conservation and evolutionary dynamics of the agr cell-to-cell communication system across firmicutes. *J Bacteriol*. 2008;190(2):743-6.
- 22- **Novick RP, Muir TW.** Virulence gene regulation by peptides in staphylococci and other Gram-positive bacteria. *Curr. Opin. Microbiol*. 1999;2(1):40-5.
- 23- **Cooksley CM, Davis IJ, Winzer K, Chan WC, Peck MW, Minton NP, et al.** Regulation of neurotoxin production and sporulation by a putative agrBD signaling system in proteolytic *Clostridium botulinum*. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76(13):4448-60.
- 24- **Ohtani K.** Gene regulation by the VirS/VirR system in *Clostridium perfringens*. *Anaerobe*. 41, 2016;41:5-9.

- 25- Vidal JE, Ma M, Saputo J, Garcia J, Uzal FA, McClane BA.** Evidence that the Agr-like quorum sensing system regulates the toxin production, cytotoxicity and pathogenicity of *Clostridium perfringens* type C isolate CN3685. *Mol Microbiol.* 2012;83(1):179-94.
- 26- Imagawa T, Higashi Y.** An activity which restores theta toxin activity in some theta toxin-deficient mutants of *Clostridium perfringens*. *Microbiol. Immunol.* 1992;36(5):523-7.
- 27- Li J, Chen J, Vidal JE, McClane BA.** The Agr-like quorum-sensing system regulates sporulation and production of enterotoxin and beta2 toxin by *Clostridium perfringens* type A non-food-borne human gastrointestinal disease strain F5603. *Infect Immun.* 2011;79(6):2451-9.
- 28- Ma M, Li J, McClane BA.** Structure-function analysis of peptide signaling in the *Clostridium perfringens* Agr-like quorum sensing system. *J Bacteriol.* 2015;197(10):1807-18.
- 29- Novick RP.** Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol. Microbiol.* 2003;48(6):1429-49.
- 30- Markowska K, Szymanek-Majchrzak K, Pituch H, Majewska A.** Understanding quorum-sensing and biofilm forming in anaerobic bacterial communities. *Int J Mol Sci.* 2024;25(23):12808.
- 31- Chen J, McClane BA.** Role of the Agr-like quorum-sensing system in regulating toxin production by *Clostridium perfringens* type B strains CN1793 and CN1795. *Infect Immun.* 2012;80(9):3008-17.
- 32- Chen J, Rood JI, McClane BA.** Epsilon-toxin production by *Clostridium perfringens* type D strain CN3718 is dependent upon the agr operon but not the VirS/VirR two-component regulatory system. *mBio.* 2011;2(6): e00275-11. doi:10.1128/mbio. 00275-11.
- 33- Ohtani K, Yuan Y, Hassan S, Wang R, Wang Y, Shimizu T.** Virulence gene regulation by the agr system in *Clostridium perfringens*. *J. Bacteriol.* 2009;191(12):3919-27.
- 34- Lyrstis M, Bryant AE, Sloan J, Awad MM, Nisbet IT, Stevens DL, et al.** Identification and molecular analysis of a locus that regulates extracellular toxin production in *Clostridium perfringens*. *Mol Microbiol.* 1994;12(5):761-77.
- 35- Yu Q, Lepp D, Mehdizadeh Gohari I, Wu T, Zhou H, Yin X, et al.** The Agr-like quorum sensing system is required for pathogenesis of necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* in poultry. *Infect Immun.* 2017;85(6):10.1128/iai. 00975-16.
- 36- Ba-Thein W, Lyrstis M, Ohtani K, Nisbet IT, Hayashi H, Rood JI, et al.** The virR/virS locus regulates the transcription of genes encoding extracellular toxin production in *Clostridium perfringens*. *J Bacteriol.* 1996;178(9):2514-20.
- 37- Hassan S, Ohtani K, Wang R, Yuan Y, Wang Y, Yamaguchi Y, et al.** Transcriptional regulation of hemO encoding heme oxygenase in *Clostridium perfringens*. *J Microbiol.* 2010;48:96-101.
- 38- Kawsar HI, Ohtani K, Okumura K, Hayashi H, Shimizu T.** Organization and transcriptional regulation of myo-inositol operon in *Clostridium perfringens*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004;235(2):289-95.
- 39- Xavier KB, Bassler BL.** LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. *Curr. Opin. Microbiol.* 2003;6(2):191-7.
- 40- Rutherford ST, Bassler BL.** Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(11):a012427.
- 41- Ng W-L, Perez L, Cong J, Semmelhack MF, Bassler BL.** Broad spectrum pro-quorum-sensing molecules as inhibitors of virulence in vibrios. *PLoS Pathog.* 2012;8(6):e1002767.
- 42- Novick R, Projan S, Kornblum J, Ross H, Ji G, Kreiswirth B, et al.** The agr P2 operon: an autocatalytic sensory transduction system in *Staphylococcus aureus*. *Mol Gen Genet.* 1995;248:446-58.
- 43- Williams P, Cámara M.** Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Curr Opin Microbiol* 2009;12(2):182-91.
- 44- Håvarstein LS, Coomaraswamy G, Morrison DA.** An unmodified heptadecapeptide pheromone induces competence for genetic transformation in *Streptococcus pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci.* 1995;92(24):11140-4.
- 45- Solomon JM, Lazazzera BA, Grossman AD.** Purification and characterization of an extracellular peptide factor that affects two different developmental pathways in *Bacillus subtilis*. *Genes Dev.* 1996;10(16):2014-24.
- 46- Grech A, Balzan M.** Quorum sensing. The synapse. 2019;18(2): 11-3.
- 47- Pietschke C, Treitz C, Forêt S, Schultze A, Künzel S, Tholey A, et al.** Host modification of a

bacterial quorum-sensing signal induces a phenotypic switch in bacterial symbionts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(40):E8488-E97.

**48- Schauder S, Shokat K, Surette MG, Bassler BL.** The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Mol Microbiol*. 2001;41(2):463-76.

**49- Bottomley MJ, Muraglia E, Bazzo R, Carfi A.** Molecular insights into quorum sensing in the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* from the structure of the virulence regulator LasR bound to its autoinducer. *J Biol Chem*. 2007;282(18):13592-600.

**50- Federle MJ.** Autoinducer-2-based chemical communication in bacteria: complexities of interspecies signaling. *Contrib. Microbiol*. 2009;16:18.

**51- Slater RT, Frost LR, Jossi SE, Millard AD, Unnikrishnan M.** *Clostridioides difficile* LuxS mediates inter-bacterial interactions within biofilms. *Sci Rep*. 2019;9(1):9903.

**52- Zhang J, Zheng YG.** SAM/SAH analogs as versatile tools for SAM-dependent methyltransferases. *ACS Chem Biol*. 2016;11(3):583-97.

**53- Raffa RB, Iannuzzo JR, Levine DR, Saied KK, Schwartz RC, Sucic NT, et al.** Bacterial communication ("quorum sensing") via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005;312(2):417-23.

**54- Belizário JE, Napolitano M.** Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches. *Front. Microbiol*. 2015;6:151578.

**55- Novick RP, Geisinger E.** Quorum sensing in staphylococci. *Annu Rev Genet*. 2008;42(1):541-64.

**56- Vidal JE, Chen J, Li J, McClane BA.** Use of an EZ-Tn 5-based random mutagenesis system to identify a novel toxin regulatory locus in *Clostridium perfringens* strain 13. *PLoS One*. 2009;4(7):e6232.

**57- Mehdizadeh Gohari I, Li J, Rood JI, McClane BA.** Reevaluation of whether a functional Agr-like quorum-sensing system is necessary for production of wild-type levels of epsilon-toxin by *Clostridium perfringens* type D strains. *mBio*. 2022;13(2):e00496-22.

**58- Petit L, Gibert M, Popoff MR.** *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends Microbiol*. 1999;7(3):104-10.

**59- Vidal JE, Ohtani K, Shimizu T, McClane BA.** Contact with enterocyte-like Caco-2 cells induces rapid upregulation of toxin production by *Clostridium perfringens* type C isolates. *Cell Microbiol*. 2009;11: 1306- 1328. [https://doi: 10.1111/j.1462-5822.2009.01332.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01332.x)

**60- Bouillaut L, Dubois T, Sonenshein AL, Dupuy B.** Integration of metabolism and virulence in *Clostridium difficile*. *Res. Microbiol*. 2015;166(4):375-83.



Volume 8, Issue 4, Winter 2026, pages: 44-62

۶۲

## The role of quorum sensing in *Clostridium perfringens* toxinogenesis

Sima Azadmanesh<sup>1</sup>; Lida Abdolmohammadi Khiav<sup>\*2</sup>; Ramin Bagheri Nejad<sup>3</sup>; Behjat Mjidi<sup>4</sup>

1- Graduated from Ph.D. Plant Bacteriology, Anaerobic Bacterial Vaccine Research and Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

2- Graduated from Ph.D. Bacteriology, Anaerobic Bacterial Vaccine Research and Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

3- Graduated from Ph.D. Bacteriology, Anaerobic Bacterial Vaccine Research and Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

4- Graduated from Ph.D. Biochemistry, Anaerobic Bacterial Vaccine Research and Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Mashhad Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.

\* Corresponding author: Graduated from Ph.D. Bacteriology- Address: Shahid Beheshti Blvd, Hesarak, Karaj, Alborz, IRAN. 3197619751 P.O.Box: 31975/148 – Tel: +98 2634050400 – Fax: +98 2634552194  
Email: [L.mohammadi@rvsri.ac.ir](mailto:L.mohammadi@rvsri.ac.ir)

Receive: June 12, 2025; Revise: July 8, 2025; Accept: July 11, 2025

 [10.22034/nfvm.2025.529961.1290](https://doi.org/10.22034/nfvm.2025.529961.1290)

### Abstract

*Clostridium perfringens* is a gram-positive anaerobic spore-forming bacterium which is widely spread in nature. The bacterial pathogen is able to secrete protein toxins and enzymes which contribute to its pathogenicity. The regulation of gene expression of these toxins is controlled by a network that establishes cell-cell communication. In order to produce toxins, bacterial cells communicate through producing and recognizing extracellular signals, particularly specific small signaling molecules known as autoinducers. These quorum sensing signals are crucial for toxin production and virulence. This system also plays a role in the processes of sporulation and biofilm formation in this bacterium, which indicates the important role of this system. Considering the importance of toxin production in *C. perfringens*, vaccine strains and the limited studies that have been conducted so far. In this manuscript, the important role of the quorum sensing systems in the production and secretion of toxins in *C. perfringens* is investigated based on review of current studies. Finally, the results of the researches indicate that quorum sensing regulatory systems, including Agr and VirS/VirR two-component system, play an important role in regulating of the virulence genes expression in *C. perfringens*. Also, the role of autoinducer molecules in regulating of virulence genes and maintaining the balance of the intestinal microbiome will pave the way for the development of novel therapeutic targets to combat this pathogen. Overall, the regulation of gene expression in *C. perfringens* is complex and some toxin-producing genes cannot be considered as a completely separate system.

**Keywords:** Autoinducing peptide, Toxin production, Quorum sensing, *Clostridium perfringens*