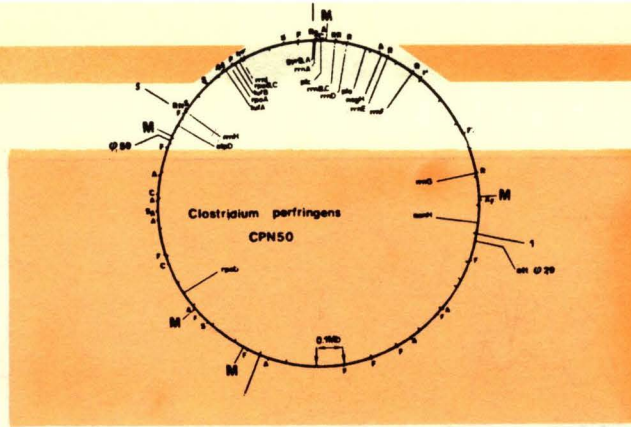


مقدمه:

کلستریدیومها باسیلهائی هستند بی هوازی، گرم مثبت و هاگزا. بعضی از کلستریدیومها در هنگام رشد توکسین های قوی و مهلك ترشح میکنند که برای انسان و دام کشنده میباشد (جدول ۱). یکی از کلستریدیومهایی که در تولید بیماری در انسان و دام نقش مهمی دارد کلستریدیوم پرفرینجنز میباشد. این باکتری دارای دوازده نوع توکسین مختلف میباشد که با حروف یونانی نامگذاری گردیده اند (جدول شماره ۲). کلستریدیوم پرفرینجنز از نظر آنتی ژنیکی به پنج تیپ A-E طبقه بندی میگردد. توکسینهای اصلی این تیپ ها آلفا، بتا، اپسیلون و یوتا بوده که تمامی آنها نکروتیک و کشنده میباشند، هشت توکسین فرعی این باسیل دارای خواص همولیتیک، پروتئولیتیک، کلاژناز، دزاکسی ریونوکلاز و غیره میباشند و به طور کلی هر یک نقشی در تخریب سلولهای بدن انسان و دام دارند (جدول ۲). این باکتری در خاک، لجن زارها، روده انسان و دام



خلاصه:

کلستریدیوم پرفرینجنز نژاد CPN50 يك پاتوژن انسانی است که از بیمار مبتلا به سپتی سمی جدا شده و حاوی يك کروموزوم حلقوی به اندازه ۳/۵۸ میلیون جفت باز میباشد. روی این کروموزوم ۲۴ لوکوس ژنی مشخص شده است. ژن آلفا توکسین بر روی این کروموزوم شامل قطعه ای با اندازه ۲/۲ کیلو باز بوده و دارای قطعه پروموتور، قطعه کدکننده و قطعه ترمیناتور یا خاتمه دهنده عمل ترجمه میباشد. قطعه کدکننده این ژن پروتئینی را با وزن مولکولی ۴۲/۵۲۸ دالتون کد مینماید که این پروتئین بعد از سنتز شدن از پیکره باکتری خارج شده و اثر خود را به صورت فعالیت آنزیمی فسفر لیاز C بر روی مولکول لیستین غشاء سلولی گلوبولهای قرمز باقی گذارده و همولیز ایجاد نموده و نهایتاً باعث مرگ میگردد.

ساختار ژنی و فعالیتهای آنزیمی آلفا توکسین کلستریدیوم پرفرینجنز

جدول ۱: توکسین های کشنده کلستریدیال

نام گونه	نام توکسین	نوع فعالیت توکسین
کلستریدیوم بوتولینوم	نوروتوکسین	ممانعت از آزاد شدن استیل کولین در پایانه های عصبی
کلستریدیوم کارنیس	ناشناخته	همولیتیک، کشندگی آن ناشناخته است
کلستریدیوم شووای	آلفا	نکروزه کننده- همولیتیک- لکوسیداز
کلستریدیوم دیفیسیل	ناشناخته	فعالیت کشندگی ناشناخته است
کلستریدیوم همولیتیکوم	مشابه توکسین بتا کلستریدیوم نووای	همولیتیک، نکروزه کننده- فسفولیپاز
کلستریدیوم هیستولیتیکوم	آلفا	فعالیت کشندگی ناشناخته است
کلستریدیوم نووای	بتا	کلاژناز
کلستریدیوم پرفرینجنز	آلفا	نکروزه کننده
	بتا	نکروزه کننده- همولیتیک- فسفولیپاز
	آلفا	نکروز کننده- همولیتیک- فسفولیپاز
	بتا	نکروز کننده
	اپسیلون	نکروز کننده
	یوتا	نکروز کننده، افزایش نفوذپذیری موزیرگ ها
	اتروتوکسین	اسهال
کلستریدیوم سپتیکوم	آلفا	نکروز کننده، همولیتیک- لکوسیداز
کلستریدیوم سوردلی	ناشناخته	فعالیت کشندگی ناشناخته
کلستریدیوم تنائی	تتاواسپاسمین	نوروتوکسین، فعالیت روی GNS ناشناخته
	تتاولیزین	همولیتیک، تولید کننده ادم

جدول ۲- توزیع توکسین در انواع تیپ های مختلف کلستریدیوم پرفرینجنز

تیپ	آلفا	بتا	گاما	دلتا	اپسیلون	اتا	تتا	یوتا	کاپا	لامبدا	مو	نو
A	+++	-	-	-	-	+	+	-	+	-	++	++
B	+++	+++	++	+	+++	*	++	-	+	+++	+++	++
C	+++	+++	++	+++	-	*	+++	-	+++	-	++	++
D	+++	-	*	-	+++	*	+++	-	+++	++	++	++
E	+++	*	*	-	-	*	+++	+++	+++	+++	+	++

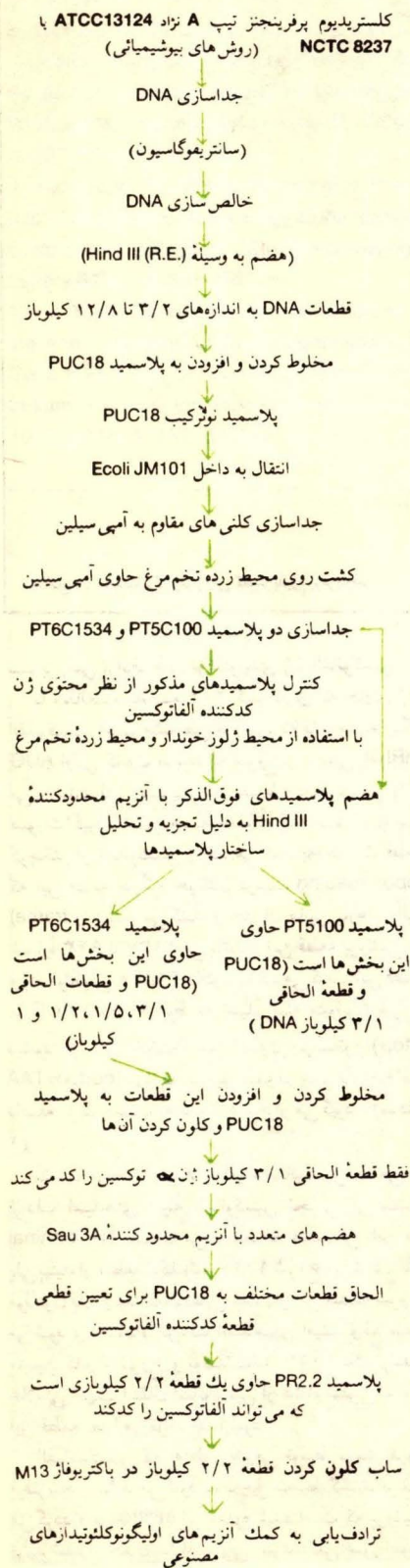
گردآوری:

دکتر رضا پيله چيان لنگرودی

عضو هیئت علمی

مرسه تحقیقاتی رازی

روش جداسازی و خالص نمودن DNA و ترادف یابی ژن آلفاتوکسین را به صورت شمائی زیر و به طور خلاصه نشان می دهیم:



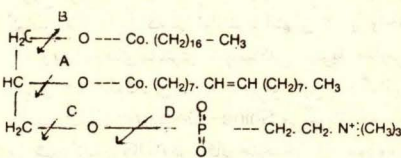
میلیون جفت باز جدا می شود وجود دارد. این منطقه مبین تنوع ژنتیکی در این جنس می باشد. تنها ژنی که در این منطقه شناسائی و نقشه برداری شده است ژن (nanH) است که یکی از فاکتورهای ویرولاانس مهم به نام سیالیداز (Sialidase) را کد می کند (Salic acid = N-acetyl newraminic acid).

این یافته ها نشان می دهد که این منطقه خاص ژنوم مسئول تنوع ژنتیکی بوده و می توان آن را عامل اختصاصی بودن انواع کلیسٲریدیوم پرفرینجنز جدا شده برای میزبان های مختلف محسوب نمود.

آلفاتوکسین (مشخصات عمومی)

طی مطالعات Mc Farlane و knight در سال ۱۹۴۱ مشخص گردید که یکی از توکسین های کلیسٲریدیوم پرفرینجنز تیپ A یک آنزیم لستیناز است. این آنزیم در گروه آنزیم های هیدرولیز کننده پیوندهای استری قرار دارد. دانشمندان فوق الذکر لستیناز کلیسٲریدیوم پرفرینجنز را لستیناز C نامیدند زیرا این آنزیم، اتصال گروه فسفات به گروه هیدروکسیل آلفا در مولکول لستین را مورد حمله قرار داده و یک استتاریل اولئیل گلیسرید (دی گلیسرید) محلول در اتر و یک فسفوکولین محلول در اسید بوجود می آورد. به همین علت این آنزیم را یک فسفاتاز می دانند نه یک لیپاز.

فرمول شیمیایی مولکول لستین (فسفا تیدیل کولین)



فاکتور فعال کننده لستیناز C یون کلسیم بوده و یون سدیم آنرا مهار می کند. pH مناسب آن ۷-۶ می باشد و واکنش تا بیش از ۹۰٪ صورت می گیرد. لستیناز C یک آنزیم بسیار اختصاصی است زیرا فقط لستین را تجزیه می کند، این آنزیم اسفینگومیلین را نیز به آهستگی هیدرولیز مینماید لیکن روی سفالین ها و سربروزیدها اثری ندارد. براساس مطالعه همین دانشمندان چون لستیناز C با آنتی سرم آلفای کلیسٲریدیوم پرفرینجنز مهار می شود، لذا همان آلفا توکسین کلیسٲریدیوم پرفرینجنز است. واکنش نگلر نیز مؤید این نظریه است.

آلفا توکسین (ساختار ژنی)

الف- Cloning and sequencing

برای مطالعات کلون و ترادف یابی ژن آلفاتوکسین محققین مختلف از کلیسٲریدیوم پرفرینجنز تیپ A نژاد ATCC13124 که آنرا باکد NCTC8237 هم نشان می دهند استفاده می کنند.

زندگی مینماید و در صورتی که شرایط رشد و تکثیر آن فراهم گردد، توکسینهای مخرب و مهلك خود را تولید و موجب مرگ و میر و ضایعات مختلف میگردد. بیماریهایی که توسط کلیسٲریدیوم پرفرینجنز در انسان و دام بوجود می آید به شرح زیر است:

- در انسان کلیسٲریدیوم پرفرینجنز تیپ A عامل مسمومیت غذایی (FOOD POISENING) عمونت رحم (UTERUS INFECTION) و قانقرایای گازی (GAS GANGRENE) بوده و تیپ C آن عامل NECROTIC ENTRITIS میباشد.
- تیپهای مختلف این باسیل در دامها عامل بیماریهای متعددی میباشد که آنروتوکسمی گوسفند و بز نامیده میشود.

ساختار کروموزومی کلیسٲریدیوم پرفرینجنز

کلیسٲریدیوم پرفرینجنز نژاد CPN50 پاتوژنی انسانی است که از یک بیمار مبتلا به سپتی سمی جدا شده است. این باسیل حاوی یک کروموزوم حلقوی به اندازه ۳/۵۸ میلیون جفت باز می باشد. روی این کروموزوم بیش از صد جایگاه برای اتصال آنزیم های محدود کننده Restriction enzymes (R.E) و همچنین ۲۴ لوکوس ژنتیکی مشخص شده است. نقشه ژنی این باسیل که در سال ۱۹۸۹ مشخص شده است نه تنها اولین نقشه کروموزومی در میان گونه های کلیسٲریدیوم است بلکه اولین نقشه حاوی جزئیات در مورد باکتری های گرم مثبت می باشد (شکل ۱). اوپرون های rRNA (rrn) که کدکننده RNA ریبوزومی می باشد ۱/۳ ژنوم را اشغال می کنند. در این نژاد پیوستگی ژنی (Linkage) ما بین ژن های جیراز (gyr-A)A، جیراز B (gyr-B)B و (rrnA) وجود دارد. منشاء همانندسازی (Origin of replication) کلیسٲریدیوم پرفرینجنز در نزدیکی این ژنهای پیوسته قرار دارد. به این ترتیب هفت اوپرون rrn در جهت عقربه های ساعت و دو اوپرون rrn در جهت عکس حرکت عقربه های ساعت قرار دارند.

سازمان یابی فشرده ژن های rRNA و tRNA در نزدیکی منشاء همانندسازی از نظر فرآیند اسپورزائی و ژرمیناسیون اهمیت بسزائی دارد.

دو ژن (pfo) و (plc) که به ترتیب آلفاتوکسین و تتاتوکسین را تولید می کنند، همچنین اوپرون تولید کننده یک عامل ویرولاانس دیگر (nagh) که تولید کننده β-N-acety glucos aminidase است، در یک منطقه ۲۰۰ کیلوبازی (۲۰۰۰۰۰ جفت باز) و در نزدیکی منشاء همانندسازی واقع شده اند. این مسئله که ژن های کدکننده آلفاتوکسین و تتاتوکسین در همه سروتیپ های کلیسٲریدیوم پرفرینجنز در نزدیکی منشاء همانندسازی واقع شده اند حائز کمال اهمیت است، زیرا این ناحیه را می توان محافظت شده ترین منطقه ژنوم دانست.

مطالعه و بررسی DNA ژنوم پنج کلاس عمده کلیسٲریدیوم پرفرینجنز نشان می دهد که در همه کلاسها کل کروموزوم مشابه می باشد، جز اینکه تفاوتی در منطقه ای که توسط R.E به نام MLUI به اندازه ۱/۲

اینچنین ترادف‌هایی در دیگر باکتری‌های گرم مثبت نیز یافت شده است که عمل آنها را می‌توان ممانعت از واکنش DNA با پروتئین‌های شبه هیستونی دانست که منجر به بیان بیشتر ژن می‌شود.

در انتهای ژن کدون‌های متوقف‌کننده نسخه‌برداری قرار دارند و در پائین دست این کدون‌ها علائم توقف نسخه‌برداری دیده می‌شود، به این ترتیب که در موقعیت باز شماره ۲۱۷۳ شش جفت باز وجود دارند که یک لوپ کوتاه را کد میکند مرکز این لوپ ۲۱۷۳/۵ است، این منطقه یک علامت ختم rho dependent است. همچنین یک لوپ کوتاه توسط ۴ جفت باز دیگر کد می‌شود که مرکز آن در موقعیت ۲۱۶۴ می‌باشد این لوپ علامت ختم rho independent می‌باشد، لذا ختم رونویسی و تشکیل mRNA هم به صورت وابسته و هم مستقل از فاکتور (رو) می‌تواند صورت گیرد.

آلفاتوکسین (خواص آنزیمی)

الف- همولیزین (Haemolysin)

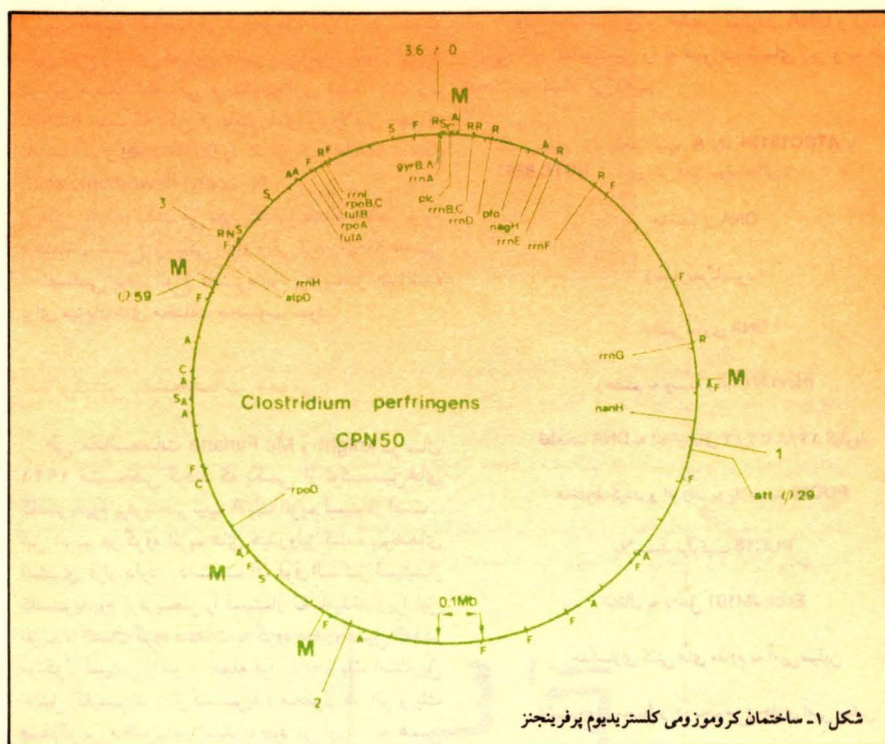
آلفاتوکسین اگر با گلبولهای قرمز خون اینکوبه شود همولیز بوجود می‌آورد ولی این اثر ناپیوستی با فعالیت همولیتیک سم مار در یک راستا قرار داده شود زیرا لستیناز سم مار با آزاد کردن اسیدهای چرب لستین را به لیزولستین که یک ماده همولیتیک است تبدیل می‌کند، در حالی که محصولات آلفاتوکسین کلاستریدیوم پرفرینجنز یعنی استاریل اولئیل گلیسرید و همچنین فسفوکولین هیچیک همولیتیک نبوده و فعالیت همولیتیک به دلیل تغییرات ساختمانی بوجود آمده در غشاء گلبول‌های قرمز در اثر تجزیه لستین می‌باشد.

در میان فسفولیپازهای باکتری‌های مختلف فقط معدودی سمیت آلفاتوکسین را دارند و این قدرت به دلیل دو نوع عملکرد این پروتئین می‌باشد. اول اینکه turnover زیاد فسفاتیدیل کولین و اسفینگومیلین که دو ترکیب کلیدی سلولهای یوکاریوتیک هستند را موجب می‌شود و دوم اینکه آلفاتوکسین کلاستریدیوم پرفرینجنز، برخلاف فسفولیپاز C بسیاری از باکتری‌ها با فسفولیپیدهای سوسپانسیون خیلی راحت‌تر وارد عمل می‌شود. این فعالیت‌ها باعث شروع همولیز گلبولهای قرمز میشود.

ب- نقش اسید آمینه هیستیدین در توکسین

آلفاتوکسین برای فعالیت‌های کاتالیتیک خود نیازمند یون‌های روی و اسید آمینه‌ای می‌باشد که به صورت توأم با روی فعالیت می‌کنند.

فسفاتیدیل کولین پرفرینجنز فسفولیپاز C مترشحه از باسیلوس سرئوس، فسفالیپاز C مترشحه از کلاستریدیوم پرفرینجنز و فسفولیپاز C مترشحه از کلاستریدیوم بایفرمنتنس، هر سه متالوانزیم‌هایی هستند که لیگاند‌های پیوند دهنده با روی در ترادف اسیدهای آمینه آنها کاملاً مشابه می‌باشند. این لیگاند‌ها ۹ عدد هستند که با روی پیوند برقرار می‌کند و پنج عدد از این لیگاند‌ها هیستیدین می‌باشند. این واقعیت نشان می‌دهد که این سه فسفولیپاز C ساختمان پروتئینی



شکل ۱- ساختمان کروموزومی کلاستریدیوم پرفرینجنز

و به زیر غشاء خارجی رفته و در منطقه پری پلاسمیک تجمع می‌یابد.

بررسی ژن آلفاتوکسین از نظر ساختار منطقه پروموتور نشان می‌دهد که در حدود ۹ باز بالاتر از کدون شروع ترجمه، در محل نوکلئوتید ۹۴۳، ۵ نوکلئوتید گوانین قرار دارند که می‌توانند با انتهای ۳ زیر واحد S ۱۶ ریبوزوم‌های باکتری اشرشیاکلی هیبرید مقاومی با انرژی ۱۰ کیلوکالری بوجود بیاورند. این پنج گوانین را ترادف Shine-Delgarno (S.D) می‌گویند که باعث می‌شود کدون AUG در مکان صحیحی از ریبوزوم قرار گرفته و جایگاه خواندن درست، انتخاب شود. بالاتر از منطقه (S.D)، از شروع باز شماره ۸۶۳ یک زنجیره هفت نوکلئوتیدی دیده می‌شود که همولوگ ترادف تشخیصی ۱۰- برای زیر واحد ۵ از RNA پلی‌مراز اشرشیاکلی می‌باشد. (این ترادف TATAAT بوده و pribnow box خوانده می‌شود) ۱۷ باز بالاتر از این منطقه یک ترادف ۵ نوکلئوتید با ۵۰٪ همسانی نسبت به ترادف تشخیصی ۳۵- برای زیر واحد ۵ وجود دارد (TTGACA).

ژن‌های متعدد دیگری در انواع دیگر باسیل‌های کلاستریدیوم ترادف‌های شبه پروموتوری 55^۳ اشرشیاکلی را دارند که بعضی مانند ۱۰- فوق‌الذکر همسانی را بطور کامل نشان می‌دهند و برخی مانند ترادف ۳۵- همسانی کمتری دارند.

فاصله ۱۷ نوکلئوتیدی مابین ترادف‌های ۱۰- و ۳۵- ژن آلفاتوکسین مشابه فضای ایتیم برای بیان قوی ژن در اشرشیاکلی می‌باشد.

بالاتر از منطقه ۳۵- ترادفی غنی از آدنین و تیمین (poly AT) که شامل ۳۱ باز می‌باشد وجود دارد

ب- بررسی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن آلفاتوکسین با مطالعه قطعه ۲/۲ کیلوبازی که حاوی ژن آلفاتوکسین است مشخص می‌شود که با توجه به اینکه AUG اولین کدون مربوط به شروع رونویسی mRNA می‌باشد، لذا رونویسی از نقاط متعددی می‌تواند صورت گیرد. لیکن همه قطعات کدکننده، پروتئینی کوچکتر از آلفاتوکسین را کد می‌کنند به جز یک قطعه که این قطعه جایگاه خواندن درست (open reading frame) را ارائه می‌کند و حد آن مابین بازهای آلی شماره ۹۴۳ تا ۲۱۳۷ می‌باشد. این قطعه پروتئینی به وزن مولکولی ۴۲۵۲۸ دالتون را کد می‌کند. این قطعه با AUG (کدون مربوط به اسید آمینه متیونین) شروع میشود و در خاتمه سه کدون ترمیناتور (stop codon=TAA) دارد که سومین کدون ختم با اختلاف فاصله ۳ باز نسبت به کدون دوم قرار می‌گیرد. (شکل ۲)

مقایسه ترادف اسیدهای آمینه آلفاتوکسین طبیعی با ترادف اسیدهای آمینه آلفاتوکسین تجربی از سمت N-Terminal نشان می‌دهد که همسانی این دو پلی‌پپتید از منطقه نوکلئوتید ۱۰۲۷ شروع می‌شود. لذا مولکول پلی‌پپتید آلفاتوکسین فعال از این منطقه شروع می‌شود و احتمالاً ترادف اسیدهای آمینه واقع شده مابین کدون شروع و نوکلئوتید ۱۰۲۷ یک ترادف علامتی جهت انتقال آلفاتوکسین از غشاء سلولی بوده و این قطعه بعداً می‌تواند جدا شود.

آلفاتوکسین که به طور طبیعی توسط کلاستریدیوم پرفرینجنز تولید می‌شود به داخل محیط کشت ترشح می‌گردد و در invitro نیز معلوم شده است که پروتئین تولید شده از خلال غشاء سلولی اشرشیاکلی عبور نموده

shows the alpha toxin of *Cl. perfringens* to contain both sphingomyelinase and lecithinase activities Mol. Gen Genet (1989) 219:453-460

8- Richard W. Titball et. al. Molecular Cloning and Nucleotide Sequences of the Alpha-toxin (phospholipase C) of *Clostridium Perfringens*. Infection and Immunity (1989) P.:367-376 Vol.57, No.2

9- Richard W. Titball and Tim Rubidge The role of histidine residues in the alpha toxin of *clostridium perfringens* FEMS Microbiology Letters 68(1990) 261-266

10- J. YUN TSO and christian siebel Cloning and expression of the phospholipase C Gene from *clostridium perfringens* and *clostridium bifermentans* Infection and Immunity 1989 p.:468-476 Vol.57 No.2

Lysogenic Phages of *Clostridium Perfringens*: mapping of the chromosomal attachment sites. FEMS Microbiology Letters 66(1990) 323-326

4- W.E. VAN Heyningen (1950) Blackwell Scientific Publication Oxford. Bacterial Toxins.

5- M.G. MACFARLANE and B.C.J.G. KNIGHT The Biochemistry of Bacterial Toxins 1- The lecithinase activity of *Cl. welchii* Toxins The Biochemical Journal 1941 Vol.35 Part2

6- Akinobu okata et.al. Cloning and sequencing of a phospholipase C gene of *Cl. perfringens* Biochemical and Biophysical research communication Vol.160 No.1 (1989) P.:33-39

7- Brigitte Sanit-Joanis et.al. Gene cloning

سوم مشابه دارند حال آنکه فسفولیپاز C باسیلوس سرئوس کاملاً غیر سمی، فسفولیپاز C کلاستریدیوم بایفرمنتس سمی ضعیف و فسفولیپاز C کلاستریدیوم پرفرینجنس سمی بسیار قوی می باشد و این سمیت فوق العاده آن احتمالاً به دلیل خصوصیات دیگری در این پروتئین است که می بایستی مورد تحقیقات وسیعتری قرار گیرد. □

منابع مورد استفاده:

1- Albert Balows et.al. (1974) CHARLES C THOMAS PUBLISHER Anaerobic Bacteria Role in Disease.

2- Bruno Canard and Stewart T. cole Genome Organization of the Anaerobic Pathogen *Clostridium perfringens*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 86, PP:6676-6680 (1989)

3- Bruno Canard and Stewart T. cole

```

GA TCTTCTAAAG TTTCCCAATTGAGCTGCATAAGCAAAG TTCCAAC TC TAA TG TAC TAGAAGC TA TTC TTG TTAATA TAGCACC TTG T TCAAA TCTTT 100
CTCTTAAAACTTCTTACACAGTA TTTACTACAGCAAGGCTTCTAGTTGTAGGAA TTCCAAGACCA TGCA TACC TTCAC TTA TTA TATA TTC TC TAAGCAT 200
AGGTGCAAGGGCAGCC TTTCCA TC TCCACC TC TTGAATAGATGTTCTACCAGACCC TTTTAA TTGAACA TCA TATC TTTTAC TATC TTTAG TTACATGT 300
TC TCC TAATAAGAGTGC TC TACCA TC TCC TAGCATTTG TAAAA TGACCAAA TTTGGTGCCAGCA TAAGCC TG TGCAA TTGG TACAA TTCC TGGGAAAGGTTT 400
CATTCC TGCAAA TATA TTTAAG TCCAAA TCGCTGTT TAAAA TCT TCA TTAAGCCCAAGTCTTTCAGCAAGAGAAG TATAAACTTAA TTAAGTTTAG 500
GATTTTTTGAACCC TTTGGATTTTGTTCAC TAAAGAA TATA TTTGGAAAGAGT TAAA TAAG TGTTTTC TAAGT TAAAACC TG TTTTGTATGAAAA TTTT 600
TATTA TCCATA TAAAA TCC TTTGCC TTA TAA TTTAT TTTCAA TTTTA TCCATCCC TTA TATTA TG TG TAAAAA TTC TTA TAAAA TAAAAAACAAGA 700
TTTAAC TTA TTA TAGCAC TAA TAA TTG TAAA TTTTCA TATAAAAA TAAG TTTAACAA TTTAGAG TGGG TAAGG TTAGATATG TTTAA TTGAAA TTTGAA 800
TTG TAT TCAAAA TATTT TAAAAA TAT TCAAAA TTTAG TGAAC TTA TGG TAA TTA TATG TAT TAA TTTTCAG TGCAAG TG TAA TCG TTA TCAAAAAAG 900
GGGAGATTAATAC TTGAAAAA TTAACGGGGGATA TAAAAA TGAAGAAGA TTG TAAGGGCG TTTATTG TGCCCGCG TAGCAAC TAGCC TATGGG 1000
S.D. m k r k i c k a l i c a a l a t s l w a
CTGGGCA TCAAC TAAAG TC TACGC TTGGGATGGAAGA TTGA TGAACAGGAAC TCA TGC TA TGA TTG TAACTCAAGGGG TTTCAATC TTAGAAAATGA 1100
g a s t k v y a w d g k i d d t g t h a m i v t q q v s i l e n d
TC TG TCCAAAA TGAACAGAAAG TG TAAGAAAAAC TTAGAGA TTTTAAAGAGAACA TGCA TGAGC TTCAA TTAGG TTC TACTTATCCAGA TTAGAT 1200
l s k n e p e s v r k n l e i l k e n m h e l q l g s t y p d y d
AAGAA TGCA TATGA TCTATA TCAAGA TCA TTTCTGGGATCC TGA TACAGATAA TAA TTTCTCAAAGGATAA TAG TTGG TATTTAGC TTA TTTATACC TG 1300
k n a y d l y q d h f w d p d t d n n f s k d n s w y l a y s i p d
ACACAGGGGAA TCACAAA TAAGAAAA TTTTACAGCAT TAGC TAGA TATGAA TGGCAAAGAGGAAAC TATAACAAGCTACA TTTATC TTTGGAGAGGCTAT 1400
t g e s q i r k f s a l a r y e w q r g n y k q a t f y l g e a m
GCAC TATTTGGAGA TATAGATAC TCA TATCA TCC TGC TAA TGTTAC TGCCG TTGA TAGCCAGGACA TG TTAAG TTTGAGAC TTTTGACAGGAAAAGA 1500
h y f g d i d t p y h p a n v t a v d s a g h v k f e t f a e e r
AAAGAACAG TAAAA TAAACACAGCAGG TTGCAAAAC TAA TGAGGC TTTTATAC TCA TATCT TAAAAAACAAGA TTTTAA TGA TGG TCAAAAAGAT 1600
k e q y k i n t a g c k t n e a f y t d i l k n k d f n a w s k e y
ATGCAAGAGG TTTTGC TAAAAACAGGAAAA TCAATATAC TATAG TCA TGC TAGCA TGAG TCA TAG TTGGGATGA TTTGGGATTA TGCAGCAAGG TAACTTT 1700
a r g f a k t g k s i y y s h a s m s h s w d d w d y a a k v t l
AGC TAACT TCAAAAAGGAAACAGCGGGATATA TTAGAT TCT TACACGA TGTATCAGAGGG TAA TGA TCCA TCAG TTGGAAAGAA TG TAAAAAGAACTA 1800
a n s q k g t a g y i y r f l h d v s e g n d p s v g k n v k e l
GTAGC TTACA TATCAAC TAG TGG TGAGAAAGA TGC TGGAACAGA TGAC TACA TGTATTTTGGAA TCAAAAACAAGGATGGAAAAA TCAAGAA TGGGAAA 1900
v a y i s t s g e l d a g t d d u , u f g o l t k d g k t q e w e m
TGGACAACCCAGGAAA TGA TTTTATGACTGGAAG TAAAGACACTTATAC TTTCAAA TTTAAAGA TGA AAAA TC TAAAAA TTGA TATACAAAA TATG TG 2000
d n p g n d f m t g s k d p t y t r k l k d e n l k i d d i q n m w
GATTAGAAAAAGAAA TATACAGCATTC TCAAG TGC TTAAGCCAGAAAACA TAAAGA TAA TAGCAAA TGGAAAAG TTG TAG TGGCAAAAGATA TAAAC 2100
i r k r k y t a f s d a y k p e n i k i i a n g k v v v d k d i n
GAGTGGATTTTCAAGGAAATCAACTTATAATA TAAAA TAA TAAAG TAAAAA TAA TTTTGG TTTTGG TGG TATTTACAAAA TAAAAAGCTT 2192
e w i s g n s t y n i k s t p s t p s t p

```

شکل ۲. ساختار ژنی آلفاتوکسین کلاستریدیوم پرفرینجنس