Bacteriocins: New generation of antimicrobial peptides

P. Motahari[1], Z. Amini-Bayat[1], S. Mirdamadi[1]

[1]Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science & Technology (IROST), Tehran, Iran

Corresponding Address: Saeed Mirdamadi, Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science & Technology, Ehsani Rad St., Enqelab St., Tehran, Iran
Tel: +98-912-1076460, Email: mirdamadi@irost.ir
Received: 25 Apr 2016 ; Accepted: 15 Dec 2016

Abstract

Antibiotics are used as a first-choice to inhibit microbial growth since the discovery in the first half of the 19th century. Nevertheless, the widespread use of antibiotics has resulted in the emergence of antibiotic-resistant strains that is one of our century problems. Concerns about antibiotic resistant is so serious which huge budget is allocated for discovery of alternative drugs in many countries. Bacteriocin is one of these compounds which was first discovered in 1925, released into the medium by E. coli. Bacteriocins are antimicrobial peptides or proteins ribosomally synthesized by many bacterial species. The use of this antimicrobial molecules in food industry obviate consumers need to safe food with least interference of chemical substances. Nisin, the most well-known bacteriocin, is the first bacteriocin found its way to food industry. Despite the widespread application of bacteriocins, resistance is seen in some species. Although it's exact mechanism is not clear. So according to the today's world need to find effective methods to control pathogens, studies of bacteriocins as a substitute for antibiotics are so important. The present review has studied the structure and activity of five classes of bacteriocins from gene to function in gram positive bacteria.

Keywords: Bacteriocin, Antimicrobial activity, Structure, Classification
Citation: Motahari P, Amini-Bayat Z, Mirdamadi S. Bacteriocins: New generation of antimicrobial peptides. J Qazvin Univ Med Sci. 2017; 21 (2): 79-94.

باکتریوسین‌ها: نسل جدید پپتیدهای ضدمیکروبی

پریا مطهری[۱]، دکتر زهرا امینی بیات[۱]، دکتر سعید میردامادی[۱]

[۱] گروه بیوتکنولوژی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: تهران، خیابان انقلاب، خیابان احسانی‌راد، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، گروه بیوتکنولوژی، تلفن ۰۹۱۲۱۰۷۶۴۶۰

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۵

چکیده

از زمان کشف آنتی‌بیوتیک‌ها در اوایل قرن نوزدهم این ترکیبات ضدمیکروبی همچنان جایگاه خود را در کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها حفظ کرده‌اند. امروزه استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها سبب ایجاد سویه‌های مقاوم شده و یکی از چالش‌های قرن جدید است. نگرانی در مورد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی به قدری جدی است که در بسیاری از کشورها بودجه‌های هنگفتی برای کشف جایگزین‌های دارویی اختصاص داده‌اند. باکتریوسین‌ها از جمله جایگزین‌های مورد توجه است که اولین بار در محیط کشت باکتری اشرشیاکلی در سال ۱۹۲۵پیدا شد. باکتریوسین‌ها، پپتیدها یا پروتئین‌های سنتز شده توسط ریبوزوم‌ها هستند که دارای طیف متنوعی از فعالیت ضدمیکروبی هستند و توسط گروه وسیعی از باکتری‌ها تولید می‌شوند. استفاده از این مولکول‌های ضدمیکروبی در صنایع غذایی نیاز مصرف‌کننده قرن جدید را که به‌دنبال ماده غذایی ایمن و با کم‌ترین دخالت ترکیبات شیمیایی است مرتفع می‌کند. نایسین اولین باکتریوسین راه یافته به صنعت است که مطالعه‌های زیادی را به‌خود اختصاص داده است. با وجود کاربرد گسترده این باکتریوسین، مواردی از وجود مقاومت در بعضی از باکتری‌ها دیده شده است که مکانیسم دقیق آن مشخص نیست. با توجه به نیاز مبرم دنیای کنونی برای یافتن شیوه‌های مؤثر کنترل باکتری‌های بیماری‌زا، مطالعه باکتریوسین‌ها به‌عنوان یک کاندیدای جانشین آنتی‌بیوتیک اهمیت می‌یابد. این مقاله مروری، علاوه بر بررسی ساختار و فعالیت ضدمیکروبی هر پنج گروه باکتریوسین در باکتری‌های گرم مثبت، این گروه پپتیدی را از ژن تا عملکرد مورد مطالعه قرار داده است.

کلیدواژه‌ها: باکتریوسین، فعالیت ضدمیکروبی، ساختار، طبقه‌بندی

مقدمه:

توجه روزافزون به سبک زندگی در سال‌های اخیر تمایل افراد جامعه را به سمت استفاده از غذاهای طبیعی بیش‌تر کرده است.[۱] مواد غذایی محل مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فاسدکننده هستند. براساس آمار به‌دست آمده، هر ساله ۳۰ درصد افراد در کشورهای صنعتی به بیماری‌های ناشی از فساد موادغذایی مبتلا می‌شوند. تنها در سال ۲۰۰۰ میلادی، ۲ میلیون نفر در سراسر جهان در نتیجه ابتلا به مسمومیت‌های غذایی جان خود را از دست داده‌اند. از طرفی به‌دلیل گزارش‌های فراوان در مورد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سراسر دنیا مصرف این داروها نیز برای حذف باکتری‌های بیماری‌زا با محدودیت روبه‌رو شده است.[۲]

از طرفی استفاده از مواد شیمیایی برای افزایش سطح ایمنی مواد غذایی نیز اقبال چندانی ندارد. با این تفاسیر به منظور حفظ سلامت مواد غذایی، استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی برای افزایش طول عمر ماده غذایی و جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا توجه ویژه‌ای به خود جلب کرده است.[۳] لذا توجه محققین در سراسر دنیا به تولید و شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی جدید معطوف شده است.[۴] باکتری‌ها از جمله مهم‌ترین کاندیدهای تولید این گونه ترکیبات ضدمیکروبی هستند. در بین این ترکیبات، باکتریوسین‌ها مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته‌اند.[۵و۶] باکتریوسین‌ها متابولیت‌های پروتئینی و معمولاً با وزن مولکولی زیر ۱۰ کیلودالتون

هستند که توسط ریبوزوم‌ها سنتز می‌شوند و فعالیت ضدمیکروبی خود را بر علیه سویه‌های نزدیک به مولد باکتریوسین و یا سویه‌های دورتر نشان می‌دهند.[۷] در سال‌های اخیر توجه بسیاری به پپتیدهای فعال زیستی شده است. این پپتیدها گروه متنوعی از پری‌پروپپتیدها با فعالیت فیزیولوژیکی (ضداکسیدانی، ضدفشارخون، کاهش کلسترول، بهبود سیستم ایمنی، ضدمیکروبی و ...) هستند. تحقیق‌ها نشان داده است که این پپتیدها دارای اثرات مثبت فیزیولوژیک متعددی هستند و در نتیجه کاندید مهمی برای تولید ترکیبات درمانی‌اند. فعالیت این پپتیدها به نوع، تعداد، توالی و خواص اسیدهای آمینه آن بستگی دارد.[۸و۹]

نتایج تحقیق‌ها نشان می‌دهد که درصد قابل توجهی از باکتری‌ها و آرکیاها قابلیت تولید باکتریوسین را دارند.[۱۰] حتی فرضیه‌ای مبنی بر این که تمام باکتری‌ها قابلیت تولید حداقل یک نوع باکتریوسین را دارند نیز در برخی از منابع به چشم می‌خورد.[۱۱و۱۲] مهم‌ترین کاربرد باکتریوسین‌ها را در صنعت نگه‌داری مواد غذایی می‌توان یافت. دو مکانیسم برای استفاده باکتریوسین‌ها در صنعت مواد غذایی وجود دارد: ۱- استفاده مستقیم از باکتریوسین خالص شده یا نیمه خالص ۲- استفاده غیرمستقیم از باکتریوسین که به‌صورت تلقیح سویه تولیدکننده به ماده غذایی مورد نظر.[۱۳]

استفاده از باکتریوسین‌ها به‌عنوان نگه‌دارنده زیستی ملزم به داشتن شرایطی است از جمله: سویه تولیدکننده باید واجد شرایط سویه ایمن (QPS, Qualified Presumption of Safety) بوده و به حرارت مقاوم باشد، علیه باکتری‌های بیماری‌زا و یا فاسدکننده مواد غذایی مؤثر باشد و سلامت مصرف‌کننده را به مخاطره نیندازد.[۱۲و۱۴] پدیوسین و نایسین تنها باکتریوسین‌هایی هستند که امروزه به‌صورت تجاری درآمده‌اند. نایسین در صنایع لبنی به‌منظور افزایش زمان نگه‌داری شیر در کشورهای گرمسیری و همچنین در محصولات کنسروی به‌منظور حذف باکتری‌های بیماری‌زا استفاده می‌شود.[۱۴] پدیوسین هم به منظور حفظ ایمنی و افزایش زمان نگه‌داری انواع پنیر، سالاد و گوشت به‌کار می‌رود.[۱۵] اما همان‌طور که در بالا ذکر شد باکتریوسین‌ها به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های نسل آینده نیز مدنظرند. مطالعه‌های انجام شده روی موش‌های تزریق شده با باکتری سالمونلا نشان داده است که موش‌های تیمار شده با باکتریوسین میکروسین در مقایسه با موش‌های کنترل به‌طور معنی‌داری دارای تعداد بسیار کم‌تری از این باکتری‌ها در کبد و طحال خود هستند.[۱۶]

با توجه به شباهت عملکرد در مقالات، معمولاً باکتریوسین‌ها با آنتی‌بیوتیک‌ها اشتباه می‌شوند (جدول شماره ۱).

جدول ۱- تفاوت آنتی‌بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها[٤]

اختلاف‌ها	آنتی‌بیوتیک	باکتریوسین
کاربرد	پزشکی	صنایع غذایی
سنتز	متابولیت ثانویه	ریبوزوم
ایمنی در سلول مولد	ندارد	دارد
مکانیسم	غشا یا اجزای داخل سلولی	معمولاً ایجاد منفذ
مقاومت	تغییر محل اثر آنتی‌بیوتیک	معمولاً با تغییر ترکیبات غشاء
سمیت	دارد	تاکنون شناخته نشده
برهم‌کنش اولیه با سلول هدف	رسپتور ویژه	گاهی به کمک مولکول لنگرگاهی
فعالیت	طیف اثر وسیع	طیف اثر محدود

شاید یکی از دلایل مهم توجه به باکتریوسین‌ها به‌عنوان جانشین آنتی‌بیوتیک‌ها، نبود مقاومت باکتری‌ها به این پپتیدهای ضدمیکروبی باشد. با وجود حضور نسبتاً طولانی باکتریوسین‌ها هنوز مقاومت‌های باکتریوسینی به‌جز چند مورد گزارش نشده است. دلایل مختلفی برای این عدم مقاومت ذکر شده که از جمله مهم‌ترین علل عدم ایجاد مقاومت‌های باکتریوسینی: مکانیسم سریع ضدمیکروبی با ایجاد منفذ در غشای سلول هدف و متلاشی شدن با آنزیم‌های پروتئازی که منجر به حذف باکتریوسین‌ها از محیط و در نتیجه عدم امکان برهمکنش سویه‌ها با باکتریوسین برای مدت طولانی می‌شود.[۱۷و۱۸] با وجود

این، گزارش‌هایی مبنی بر مقاومت بعضی از گونه‌های باسیلوس به نایسین به دلیل تولید آنزیم نایسیناز و برخی از سویه‌های لیستریا مونوسیتوژنز به دلیل تغییر ترکیبات فسفولیپیدی غشا وجود دارد.[۱۴] این مقاله مروری سعی در شناسایی، بررسی ساختار و عملکرد ضدمیکروبی نسل جدید جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها دارد.[۱۵]

❋مواد و روش‌ها:

در این مطالعه مروری، جهت جستجوی مقالات از پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed و Scopus استفاده گردید. مقالات نگاشته شده بین سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۵ با اولویت انتخاب مقالات ۵ سال اخیر در این مطالعه مدنظر قرار گرفتند. واژگان مورد استفاده شامل باکتریوسین (Bacteriocin) و باکتری‌های اسید لاکتیک (Lactic acid bacteria) بود. تعداد مقالات یافت شده با این واژگان کلیدی ۹۹۰ مورد بود که از بین آن‌ها ۵۸ مقاله انتخاب و نتایج آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

طبقه‌بندی باکتریوسین‌ها:

باکتریوسین‌ها از نظر سویه تولیدکننده، طیف عمل ضدمیکروبی، وزن مولکولی، پایداری، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و نحوه عملکرد ضدمیکروبی گروه متنوعی از پپتیدهای ضدمیکروبی را تشکیل می‌دهند که این موارد می‌توانند مبنای طبقه‌بندی باشند.[۴] براساس طیف اثر می‌توان باکتریوسین‌ها را در دو گروه جای داد: گروه اول که اثر ضدمیکروبی را علیه سویه‌های نزدیک به سویه تولیدکننده اعمال می‌کنند و گروه دوم که طیف وسیع‌تری از میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی را مورد هدف قرار می‌دهند. یکی از بهترین موارد در مورد گروه دوم نایسین است که در غلظت‌های بالا علیه باکتری‌های گرم منفی نیز مؤثر است. گرچه گزارش‌هایی مبنی بر اثر بعضی از باکتریوسین‌ها روی باکتری‌های گرم منفی به چشم می‌خورد، اما به‌طور معمول غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی همچون سدی جلوی نفوذ عوامل خارجی را می‌گیرد. به طور معمول باکتریوسین‌ها روی باکتری‌های گرم منفی اثر مهاری چندانی نمی‌گذارند.[۱۹] در بین تمام گروه‌بندی‌های مذکور طبقه‌بندی براساس ویژگی‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی بیش‌ترین کاربرد را دارد. هنگ و همکارانش (در سال ۲۰۰۷) از جمله افرادی بودند که باکتریوسین‌ها را بر این اساس طبقه‌بندی کردند. در این طبقه‌بندی باکتریوسین‌ها در ۵ گروه قرار می‌گیرند:

I: لانتی‌بیوتیک‌ها

II: باکتریوسین‌های کوچک و فاقد تغییرات پس از ترجمه

III: باکتریوسین‌های بزرگ

IV: باکتریوسین‌های حلقوی

V: باکتریوسین‌های ترکیبی[۲۰]

I: لانتی‌بیوتیک‌ها

لانتی‌بیوتیک‌ها، پپتیدهای دارای تغییرات پس از ترجمه هستند و در ساختار آن‌ها اسید آمینه‌های غیرمعمول مانند لانتیونین دیده می‌شود. این پپتیدها معمولاً کوچک و دارای وزن مولکولی کم‌تر از ۵ کیلودالتون هستند.[۲۱] ۱۶۰ باکتریوسین از این گروه در بانک اطلاعاتی BAGEL ثبت شده است (BAGEL جدیدترین پایگاه اطلاعاتی در مورد باکتریوسین‌ها است که ردیابی ژن باکتریوسین در ژنوم توالی موردنظر را امکان‌پذیر می‌کند. در این پایگاه گزینه‌های لازم برای جستجوی باکتریوسین در پایگاه‌های Uniprot و NCBI نیز وجود دارد).[۱۵] از این تعداد کوچک‌ترین لانتی‌بیوتیک دارای ۱۹ اسید آمینه ۲۰۳۳ دالتون و آنکوونین خوانده می‌شود و بزرگ‌ترین با ۷۸ اسید آمینه سینامایسین با وزن مولکولی ۸۲۰۵ دالتون توسط جنس استرپتومایسز تولید می‌شوند (جدول شماره ۲).

توالی اسید آمینه‌ای همه آن‌ها در این بانک گردآوری شده است. با توجه به اقبال باکتریوسین نایسین برای حضور در صنعت مواد غذایی به عنوان نگه‌دارنده طبیعی، اطلاعات کاملی در مورد این دسته از باکتریوسین‌ها وجود دارد.[۲۲]

جدول ۲- نام، گروه، باکتری مولد، تعداد اسید آمینه، عملکرد ضدمیکروبی و کُد Uniprot باکتریوسین‌ها از پایگاه داده BAGEL[۲۳]

باکتریوسین	گروه	فعالیت ضدمیکروبی	تعداد اسید امینه	Uniprot
آنکوونین	باکتریوسین‌های کوچک و با تغییر پس از ترجمه (گروه I)	مهارکننده آنزیم مبدل آنژیوتنسین I	۱۹	LANC-STRS6
سینامایسین	باکتریوسین‌های کوچک و با تغییر پس از ترجمه (گروه I)	مهارکننده آنزیم فسفولیپاز A2	۷۸	CINA_STRGV
رامنوسین A	باکتریوسین‌های کوچک و بدون تغییر (گروه II)	ایجاد منفذ	۱۳	RHAMALACRCH
پروپیونیسین T1	باکتریوسین‌های کوچک و بدون تغییر (گروه II)	گزارش نشده	۹۶	Q9F6C4_9ACTN
BCN5	باکتریوسین‌های بزرگ‌تر از ۱۰ کیلودالتون (گروه III)	گزارش نشده	۳۳۳	BCN5_CLOPE
دیسگالاکتیسین	بزرگ‌تر از ۱۰ کیلودالتون (گروه III)	مهار ورود گلوکز و آسیب به غشای سلولی	۲۲۰	HAH4-HALME

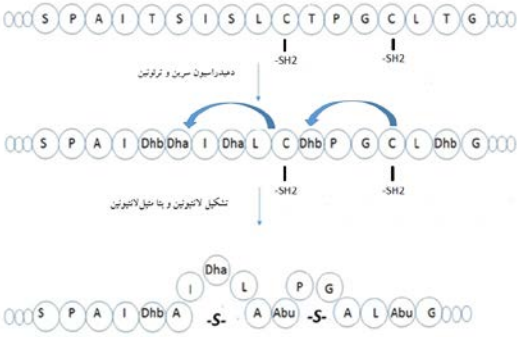
نایسین اولین باکتریوسینی است که تأییدیه سازمان غذا و دارو در امریکا را کسب کرده است و امروزه در بیش از ۴۸ کشور جهان به عنوان نگه‌دارنده مواد غذایی استفاده می‌شود.[۲۴و۲۵] لانتی‌بیوتیک‌ها براساس ساختار و عملکرد ضدمیکروبی در دو گروه قرار می‌گیرند: زیر گروه A شامل پپتیدهای خطی و کاتیونی دارای حداکثر ۳۴ اسید آمینه که مکانیسم عمل ضدمیکروبی این گروه تخریب غشای سلول هدف است. زیرگروه B پپتیدهای حلقوی و دارای حداکثر ۱۹ اسید آمینه هستند و با هدف قرار دادن آنزیم‌های سلول هدف اعمال حیاتی آن را متوقف می‌کنند.[۲۶] با وجود این طبقه‌بندی اکثر باکتریوسین‌ها دارای فعالیت بینابینی هستند. برای مثال نایسین دارای هردو فعالیت مهاری است. تعداد زیادی از لانتی‌بیوتیک‌های تازه شناسایی شده را نیز نمی‌توان در یکی از دو زیرگروه جای داد. بررسی‌های جدیدتر پیشنهاد می‌کنند که لانتی‌بیوتیک‌ها در ۱۱ زیرگروه طبقه‌بندی شوند گرچه هنوز این تقسیم‌بندی نیز کامل نشده است.[۲۷]

سنتز لانتی‌بیوتیک‌ها:

سنتز لانتی‌بیوتیک‌ها با ایجاد پری‌پپتید اولیه آغاز می‌شود. طول پپتید اولیه که دارای پپتید راهنما در ابتدای توالی خود است از ۲۳ تا ۵۹ اسید آمینه متغیر است. تغییرات انجام شده بر روی پری‌پپتید اولیه بر روی پپتید راهنما اتفاق نمی‌افتد. تمام تغییرات در اسید آمینه‌های سرین، ترئونین و سیستئین انجام می‌شود. ایزولوسین، آلانین و لیزین هم در مواردی دچار تغییرات پس از ترجمه می‌شوند. تغییرات پس از ترجمه در لانتی‌بیوتیک‌ها توسط آنزیم‌های ویژه‌ای انجام می‌شود. در مورد باکتریوسین نایسین دو آنزیم در ایجاد این تغییرات نقش دارند. LanB و LanC دو ژن سازنده این آنزیم‌ها هستند. آنزیم کُد شده توسط ژن LanB در دهیدراسیون سرین و ترئونین و ایجاد دهیدروآلانین و دهیدروبوتیرین دخالت دارد. پروتئین LanC ایجاد حلقه در دهیدروآلانین و دهیدروبوتیرین را کاتالیز می‌کند و به این ترتیب لانتیونین و متیل لانتیونین ایجاد می‌شود.[۲۸]

در گروهی از لانتی‌بیوتیک‌ها مثل لاکتیسین ۴۸۱ پروتئین LanM که توسط ژن LanM سنتز می‌شود هر دو فعالیت دهیدراسیون و ایجاد حلقه را برعهده دارد.[۲۹] سنتز لانتی‌بیوتیک‌ها با دهیدراسیون اسید آمینه‌های سرین و ترئونین و سنتز دهیدروآلانین و دهیدروبوتیرین (به‌ترتیب) آغاز می‌شود. اسید آمینه‌های سنتز شده با داشتن گروه‌های الکتروفیل با همسایه‌های نوکلئوفیل خود وارد واکنش می‌شوند. وقتی دهیدروآلانین مورد حمله گروه تیول سیستئین مجاور قرار بگیرد، لانتیونین و اگر

دهیدروبوتیرین هدف این حمله باشد متیل لانتیونین ایجاد می‌شود. به دلیل وجود این پل‌های درون مولکولی لانتی‌بیوتیک‌ها ساختار چند حلقه‌ای دارند[۲۶و۳۰] (شکل شماره ۱).



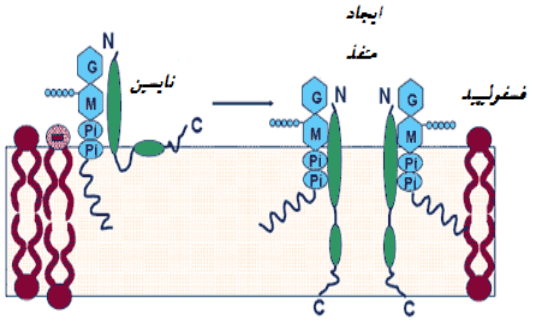
شکل ۱- تغییرات پس از ترجمه در لانتی‌بیوتیک‌ها

وجود حلقه‌ها و سایر تغییرات پس از ترجمه که در لانتی‌بیوتیک‌ها دیده می‌شود در مقاومت حرارتی و مقاومت به پروتئازها و همچنین فعالیت ضدمیکروبی این گروه از پپتیدها نقش به‌سزایی دارد. تولید لانتی‌بیوتیک بالغ منوط به تولید پری لانتی‌بیوتیک (حاوی پپتید راهنما)، تغییرات پس از ترجمه، بریده شدن پپتید راهنما به منظور تولید باکتریوسین بالغ و خروج از سلول است. به علاوه سلول تولیدکننده باکتریوسین به منظور حفظ ایمنی خود، پروتئینی را کُد می‌کند که در نتیجه فعالیت این پروتئین از اثر ضدمیکروبی آن در امان می‌ماند.[۳۱] بعد از سنتز و تغییرات پس از ترجمه، لانتی‌بیوتیک‌ها توسط سیستم خروج ABC (دارای محل اتصال ATP) از سلول به محیط خارج سلول ترشح می‌شوند. پپتید راهنما در حین خروج از سلول بریده می‌شود و در نهایت پپتید بالغ به فعالیت ضدمیکروبی می‌پردازد. در اپرون لانتی‌بیوتیک‌ها ژن‌های تنظیم‌کننده سنتز باکتریوسین هم ردیابی شده است که با کنترل رونویسی، عمل سنتز باکتریوسین را تنظیم می‌کنند.[۲۸]

سنتز لانتی‌بیوتیک‌ها با دهیدراسیون اسید آمینه سرین (S) و ترئونین (T) و ایجاد دهیدروآلانین (Dha) و دهیدروبوتیرین (Dhb) (به ترتیب) آغاز می‌شود. به دنبال دهیدراسیون اسید آمینه سرین و واکنش آن با گروه سولفیدریل اسید آمینه سیستئین، پلی بین دو اسید آمینه ایجاد می‌شود. پس از ایجاد پل، حلقه درون مولکولی ایجاد می‌شود. ایجاد حلقه به‌دلیل اتصال آلانین- سیستئین- آلانین است که لانتیونین نامیده می‌شود. در نتیجه واکنش گروه سولفیدریل با دهیدروبوتیرین حلقه متشکل از آلانین- سیستئین- آمینوبوتیرات (Abu) ایجاد می‌شود که بتامتیل لانتیونین نامیده می‌شود.[۳۰]

مکانیسم عمل ضدمیکروبی لانتی‌بیوتیک‌ها:

فعالیت ضدمیکروبی نایسین به عنوان معروف‌ترین لانتی‌بیوتیک با جزئیات بررسی شده است. این پپتید در ابتدا با ایجاد منفذ در غشای سلول هدف باعث تخریب آن می‌شود (شکل شماره ۲).



شکل ۲- مکانیسم ضدمیکروبی نایسین

این منافذ با مهار نیروی محرکه پروتون، تولید ATP و تجمع یون‌ها را با اختلال همراه می‌کنند. مهم‌ترین قسمت در فعالیت ضدمیکروبی نایسین اتصال آن به غشای سلول هدف است. اتصال اولیه به غشا به کمک دمین انتهای آمین در نایسین و پیروفسفات در مولکول لیپید II و از طریق پیوندهای هیدروژنی صورت می‌گیرد.[۳۲] دمین انتهای آمین در نایسین شامل حلقه‌های A، B و C است. دمین انتهای آمین توسط ناحیه انعطاف‌پذیر میانی که شامل ۳ اسید آمینه است (آسپاراژین، متیونین و لیزین) به حلقه‌های D و E که در دمین انتهای کربوکسیل قرار دارد متصل می‌شود. به

دنبال اتصال اولیه بین انتهای آمین با مولکول لیپید II، دمین انتهای کربوکسیل به سمت داخل غشا کشیده و در نهایت منفذ ایجاد می‌شود.[۳۳] ورود پپتیدها به داخل غشا به‌صورت عمودی و حول یک کانال مرکزی است. سمت آب‌دوست پپتیدها به سمت مرکز منفذ و سمت آب‌گریز به سمت لیپیدهای غشا است. از این‌رو این سبک ایجاد منفذ را مدل "شیار- بشکه" می‌نامند.[۳۴] مطالعات نشان می‌دهد که اتصال نایسین به لیپید II منجر به تغییر در قطبیت پتانسیل الکتریکی غشا می‌شود. لیپید II در ایجاد این منفذ نقش مهمی را ایفا می‌کند به‌گونه‌ای که حذف لیپید II در سلول‌های حساس منجر به کاهش اثر ضدمیکروبی نایسین در آن‌ها می‌شود. با توجه به این که لیپید II پیش‌ساز سنتز پپتیدوگلیکان است این اتصال می‌تواند منجر به مهار سنتز دیواره سلولی نیز شود.[۳۵] همچنین برخی از محققین نشان داده‌اند که اتصال نایسین به تایکوئیک اسید باعث فعال شدن آنزیم‌های لیزکننده سلولی می‌شود. علاوه بر این نایسین بر روی اسپور باکتری‌ها هم مؤثر است. بر این اساس گروه تیول در اسپور با دهیدروآلانین واکنش می‌دهد. امروزه شواهدی مبنی بر اثر ضداسپوری نایسین حتی با حذف دهیدروآلانین نیز وجود دارد.[۳۶و۳۷]

مکانیسم ضدمیکروبی نایسین: اتصال اولیه نایسین با غشا به کمک دمین انتهای آمین با پیروفسفات در مولکول لیپید II و از طریق پیوندهای هیدروژنی صورت می‌گیرد. به‌دنبال اتصال اولیه بین انتهای آمین با مولکول لیپید II، دمین انتهای کربوکسیل به سمت داخل غشا کشیده شده و در نهایت منفذ ایجاد می‌شود.[۳۳]

II: باکتریوسین‌های کوچک و فاقد تغییرات پس از ترجمه

گروه دوم باکتریوسین‌ها خود به ۳ زیرگروه طبقه‌بندی می‌شوند. این پپتیدها معمولاً زیر ۱۰ کیلودالتون وزن دارند.[۳۸] ۲۳۶ باکتریوسین از این گروه در بانک اطلاعاتی BAGEL ثبت شده است. کوچک‌ترین باکتریوسین این گروه با ۱۳ اسید آمینه و وزن مولکولی ۱۴۱۴ دالتون (رامنوسین A) توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس و بزرگ‌ترین با داشتن ۹۶ اسید آمینه و وزن مولکولی ۱۰۰۴۵ دالتون (پروپیونیسین T1) توسط پروپیونی باکتریوم تیونی سنتز می‌شود. زیرگروه IIa باکتریوسین‌های دارای فعالیت ضدلیستریایی و تک پپتیدی و دارای اسید آمینه‌های حفاظت شده هستند که از آن‌ها به عنوان باکتریوسین‌های شبیه به پدیوسین (BAC083) نام برده می‌شود.[۳۹] زیرگروه IIb باکتریوسین‌های دو پپتیدی هستند و زیرگروه IIc باکتریوسین‌های خطی بدون تغییرات پس از ترجمه متفاوت با گروه پدیوسین‌ها می‌باشند.[۴۰]

زیرگروه IIa:

توجه ویژه به باکتریوسین‌های زیرگروه IIa به خاطر فعالیت ضدلیستریایی این گروه است. با توجه به جایگاه باکتری لیستریا در صنایع غذایی و اهمیت این گروه از پپتیدها، انواع متعددی از آن‌ها در اوایل قرن ۱۹ شناسایی شدند.[۴۱] تمام باکتریوسین‌های این گروه کاتیونی و در انتهای آمین مولکول خود حاوی موتیف محافظت شده YGNGV هستند که به عنوان موتیف "جعبه پدیوسین" نیز شناخته می‌شود. دمین انتهای آمین در این باکتریوسین‌ها از سه رشته غیرموازی β تشکیل شده است که با یک پیوند دی‌سولفیدی پایدار شده است. دمین انتهای کربوکسیل دارای ساختار α هلیکس دوگانه دوست است. علاوه بر موتیف محافظت شده، همه باکتریوسین‌های شبیه به پدیوسین دارای پیوند دی‌سولفیدی در انتهای آمین مولکول خود هستند (تعدادی از آن‌ها دارای یک پیوند دی‌سولفیدی دیگر در انتهای کربوکسیل خود هستند). وجود این پیوند دی‌سولفیدی علاوه بر افزایش پایداری پپتید در فعالیت ضدمیکروبی آن نیز مؤثر است.[۴۲] پپتیدهای این گروه براساس ساختار سه بُعدی، نواحی حفاظت شده در ساختار اولیه و مکانیسم ضدمیکروبی به ۸ زیرگروه تقسیم می‌شوند.[۴۳] مطالعه‌های حاصل از ساختار سه بُعدی در

باکتریوسین‌های این گروه نشان می‌دهد که این پپتیدها دارای کنفورماسیون بی‌ساختار در محیط‌های آبی هستند. در محیط‌های غیرآبی ساختار هلیکال با درجه‌های آب‌گریزی متفاوت و سایر ساختارهای متداول ثانویه ایجاد می‌شود.[۴۴]

سنتز و تنظیم بیان زیرگروه IIa:

حداقل ۴ ژن شامل؛ ژن کُدکننده پپتید ضدمیکروبی، ژن کُدکننده پروتئین ایمنی، ژن کُدکننده انتقال‌دهنده و یک پروتئین همراه به منظور جابه‌جایی باکتریوسین به سمت خارج سلولی در اپرون این دسته از باکتریوسین‌ها وجود دارد. تنظیم این پپتیدها با سیستم کروم سنسینگ انجام می‌گیرد. برای این نوع سیستم تنظیم سه دسته ژن وجود دارد که شامل؛ ژن سنتزکننده پپتید القایی، ژن سنتزکننده هیستیدین پروتئین کیناز غشایی و تنظیم‌کننده‌های سیتوپلاسمی می‌باشند.[۴۵]

در ابتدا پپتید القایی که دارای توالی راهنما در انتهای آمین مولکول خود است با حذف پپتید نشانه در مسیر انتقال از طریق انتقال‌دهنده ABC به خارج سلول ترشح می‌شود. وقتی غلظت پپتیدهای القایی در خارج سلول به حد مشخصی رسید، هیستیدین پروتئین کیناز غشایی سیگنال را دریافت و فسفریله می‌شود. پروتئین کیناز فسفریله، گروه فسفات را به تنظیم‌کننده‌های مربوطه در داخل سیتوپلاسم منتقل می‌کند. تنظیم‌کننده‌ها در نقش یک فعال‌کننده رونویسی عمل می‌کنند و باعث افزایش بیان ژن‌های مولد باکتریوسین می‌شوند.[۴۵] باکتریوسین‌های این گروه به صورت پری‌پپتید اولیه سنتز می‌شوند. پری‌پپتید با برش توالی راهنما که از توالی‌های حفاظت شده است به پپتید بالغ مبدل می‌شود. توالی راهنما دارای دو گلایسین است و برش در انتهای کربوکسیل گلایسین انجام می‌شود. به‌جز باکتریوسین ۳۱، انتروسین P (BAC079) و لیستریوسین 743A که از طریق سیستم نقل و انتقال وابسته به Sec به خارج سلول ترشح می‌شوند، بقیه اعضای این گروه با سیستم انتقال‌دهنده غشایی ABC به بیرون سلول منتقل می‌شوند. در حین این انتقال توالی راهنما حذف و پپتید بالغ به بیرون ترشح می‌شود. توالی راهنما همچون سیگنالی در جهت‌دهی پری‌باکتریوسین به سمت انتقال‌دهنده ABC عمل می‌کند.[۴۱] علاوه بر این حضور پپتید راهنما باعث غیرفعال نگه‌داشتن باکتریوسین در فضای داخل سلولی نیز می‌شود.

مکانیسم ایمنی و ضدمیکروبی در باکتریوسین زیرگروه IIa:

همانند لانتی‌بیوتیک‌ها در این گروه نیز پروتئین‌های ایمنی منجر به حفظ باکتری مولد در مقابل باکتریوسین خود می‌شوند. مقایسه این توالی‌ها نشان می‌دهد که پروتئین‌های ایمنی در این گروه بین ۵ تا ۸۵ درصد شباهت دارند و بر این اساس آن‌ها را در سه گروه تقسیم‌بندی کرده‌اند. با وجود تشابه بین پروتئین‌های ایمنی، این مولکول‌ها به‌صورت اختصاصی بر علیه باکتریوسین خود عمل می‌کنند. ایمنی بر علیه دو باکتریوسین در تعداد کمی از سویه‌ها و فقط در سویه‌هایی که قرابت زیادی دارند مشاهده شده است.[۴۶]

از طرف دیگر تحقیقات نشان می‌دهد که اضافه شدن پروتئین ایمنی به صورت خارج سلولی باعث حفاظت باکتری‌های حساس نمی‌شود، پس عمل حفاظتی از طریق سطح سیتوپلاسمی اتفاق می‌افتد. پروتئین ایمنی با اتصال به مانوز فسفو ترانسفراز از ایجاد منفذ جلوگیری می‌کند. پروتئین‌های ویژه‌ای در سیستم مانوز فسفو ترانسفراز به عنوان گیرنده این دسته از باکتریوسین‌ها عمل می‌کنند. سیستم مانوز فسفو ترانسفراز که خود متشکل از سه بخش است به عنوان انتقال‌دهنده قندها در باکتری‌ها شناخته می‌شود. این ۳ بخش شامل: ۱) آنزیم I، ۲) فسفو پروتئین حاوی هیستیدین و ۳) آنزیم II می‌باشند. آنزیم II از چهار زیرواحد تشکیل شده است. زیر واحد IIC (یک پروتئین غشایی است) این آنزیم نقش رسپتور را برای باکتریوسین‌های این گروه ایفا می‌کند.

رشته‌های β در انتهای آمین باکتریوسین به حلقه خارجی زیرواحد IIC متصل می‌شوند، به دنبال این اتصال α هلیکس‌های انتهای دمین کربوکسیل با هلیکس‌های عبورکننده از داخل غشا در مانوز فسفو ترانسفراز برهمکنش داده و منجر به تغییر کنفورماسیون این ترانسفراز می‌شوند. به دنبال این تغییر شکل، مانوز فسفو ترانسفراز به انتقال‌دهنده دائمی و بدون برگشت مولکول‌های ضروری سلول تبدیل می‌شود.[۴۷] مطالعه‌ها نشان می‌دهد که انتهای آمین روی سطح خارجی سلول باقی می‌ماند و انتهای کربوکسیل باکتریوسین با ورود به داخل غشا منفذ را ایجاد می‌کند. با این وجود گروهی از محققین حضور رسپتور را برای اتصال باکتریوسین‌های این گروه ضروری نمی‌دانند.[۴۸]

زیرگروه IIb:

زیرگروه IIb، زیر گروه دیگر گروه II است که از دو پپتید کاملاً مجزا تشکیل شده است. حضور این دو پپتید برای فعالیت بهینه ضدمیکروبی ضروری است.[۴۱] مانند سایر باکتریوسین‌ها پپتیدهای این گروه نیز کاتیونی هستند. تعداد اسیدهای آمینه در باکتریوسین‌های این گروه معمولاً بین ۳۰ تا ۶۰ اسید آمینه گزارش شده است. باکتریوسین‌های این گروه در دو زیرگروه طبقه‌بندی می‌شوند. در زیرگروه اول (E) هر دو پپتید به‌صورت تک پپتیدی دارای فعالیت هستند اما وقتی با هم ترکیب می‌شوند این فعالیت به صورت چشمگیری افزایش می‌یابد. زیرگروه دوم (S) شامل باکتریوسین‌هایی است که فقط در حالت ترکیبی خاصیت ضدمیکروبی از خود نشان می‌دهند.[۴۸]

سنتز و مکانیسم عمل زیرگروه IIb:

انتروسین L50 تنها باکتریوسین دو پپتیدی است که فاقد پپتید راهنما است. بقیه اعضای این گروه دارای پپتید راهنمای ۱۵ تا ۳۰ اسید آمینه‌ای هستند که حاوی دو گلایسین بوده و قبل از خروج از طریق سیستم ABC بُرش می‌خورند. ژن‌های کُدکننده دو پپتید ضدمیکروبی در کنار هم قرار دارند و به همین دلیل احتمالاً هر دو پپتید به میزان مساوی سنتز می‌شوند.[۴۸] پپتیدهای ضدمیکروبی این گروه با ایجاد منفذهای اختصاصی سلول هدف را متلاشی می‌کنند. در مورد احتمال وجود گیرنده برای اتصال اولیه در باکتریوسین‌های این گروه هنوز نظر قاطعی وجود ندارد. دو زیرواحد این پپتیدها با داشتن موتیف هلیکس-هلیکس به داخل غشا نفوذ و با تغییر کنفورماسیون در یک پروتئین غشایی مقدمات ایجاد منفذ را فراهم می‌کنند.[۴۹] برای عملکرد ضدمیکروبی این دسته از پپتیدها دو مدل "شیار- بشکه" و مدل "فرش" پیشنهاد شده است. در مدل اول هلیکس‌های کاتیونی دو پپتید به‌صورت عبوری از غشا، منفذ بشکه مانندی را در غشای سلول هدف ایجاد می‌کنند. در مدل فرش، پپتیدها همچون لایه‌ای سطح غشای سلول را می‌پوشانند و غلظت بالای آن‌ها منجر به تخریب غشا می‌شود. در نهایت مواد داخل سلول به صورت اختصاصی خارج می‌شوند.[۵۰] مکانیسم عمل این گروه از پپتیدهای ضدمیکروبی در باکتریوسین لاکتوکوکسین جی به‌خوبی نشان داده شده است. دو پپتید تشکیل‌دهنده لاکتوکوکسین جی پس از برخورد به غشای سلول حساس از طریق ساختار مارپیچ α با موتیف GXXXG به‌هم متصل می‌شوند. انتهای کربوکسیل در زیرواحد α که دارای بار مثبت است برهمکنش اولیه را تسهیل می‌کند. سپس هر دو زیرواحد در ایجاد منفذ با یکدیگر همکاری می‌کنند.[۵۱]

زیرگروه IIC:

زیرگروه IIC یکی از نامتجانس‌ترین گروه‌های باکتریوسین است. این گروه برخلاف پدیوسین‌ها، موتیف محافظت شده YGNGV را ندارد، علاوه بر این از نظر ساختار و مکانیسم عمل هم بسیار متفاوت است. باکتریوسین‌های این گروه به‌صورت پری باکتریوسین سنتز می‌شوند. پری باکتریوسین دارای دو گلایسین

به‌صورت حفاظت شده در توالی پپتید راهنمای خود است که باعث هدایت باکتریوسین به سمت سیستم انتقال‌دهنده ABC و خروج باکتریوسین می‌شود (در این گروه استثنائاتی وجود دارد که فاقد توالی حفاظت شده در پپتید راهنمای خود هستند و با سیستم Sec به خارج ترشح می‌شوند). گرچه در این گروه باکتریوسین‌های فاقد پپتید راهنما هم شناسایی شده است. با توجه به این که اعضای این گروه دارای تفاوت ساختاری قابل توجهی هستند، عملکرد ضدمیکروبی نیز در آن‌ها بسیار متنوع است. لاکتوکوکسین با اتصال به مانوز فسفو ترانسفراز و ایجاد منفذ مکانیسم مشابهی با پدیوسین نشان می‌دهد در مقابل لاکتیسین بدون نیاز به گیرنده و فقط از طریق برهمکنش الکتروستاتیک به غشای سلول هدف متصل می‌شود. به‌دنبال این اتصال، باکتریوسین ساختار مارپیچ α می‌گیرد و باعث جابه‌جایی لیپیدهای غشا و ایجاد منفذ می‌شود. این منفذ یکی از بزرگ‌ترین منافذی است که تا به‌حال برای عملکرد باکتریوسین‌ها گزارش شده است و از طریق آن بسیاری از ماکرومولکول‌ها همچون پروتئین‌ها خارج می‌شوند. همچنین در این گروه لاکتوکوکسین ۹۷۲ (BAC188) با مهار تشکیل دیواره از تقسیم سلولی جلوگیری می‌کند. عملکرد این باکتریوسین فقط در سلول‌های در حال تقسیم است. این باکتریوسین با اتصال به لیپید II جلوی تقسیم سلولی را می‌گیرد.[۱۳]

III: باکتریوسین‌های بزرگ

این گروه معمولاً پروتئین‌های بزرگ‌تر از ۳۰ کیلودالتون هستند. ۹۳ باکتریوسین از این گروه در بانک اطلاعاتی BAGEL ثبت شده است. باکتریوسین BCN5 (کلستریدیوم پرفرنژنز مولد آن است) با ۸۹۰ اسید آمینه (۹۶۷۰۰ دالتون) بزرگ‌ترین و دیسگالاکتیسین (باکتری مولد استرپتوکوکوس دیسگالاکتیا است) با۲۲۰ اسید آمینه (وزن مولکولی ۲۴۵۲۹ کیلودالتون) کوچک‌ترین باکتریوسین این گروه است.[۵۲]

برخلاف گروه‌های قبلی به دلیل تعداد اندک باکتریوسین‌های این گروه اطلاعات چندان دقیقی درباره آن‌ها وجود ندارد. این پروتئین‌های ضدمیکروبی خود به دو زیرگروه تقسیم می‌شوند. زیرگروه IIIa (باکتریولیزین) پروتئین‌های ضدمیکروبی را شامل می‌شود که با تخریب دیواره، باکتری هدف خود را متلاشی می‌کنند. زیرگروه IIIb پروتئین‌هایی هستند که از طریق ایجاد منفذ و خروج ATP سلول هدف را مهار می‌کنند.[۵۲] لیزوستافین به‌عنوان معروف‌ترین باکتریولیزین شناخته شده دارای وزن مولکولی ۲۷ کیلودالتون و یک آنزیم همراه با گروه‌های فلزی است. دمین انتهای آمین در این مولکول مسئول فعالیت کاتالیتیکی و دمین انتهای کربوکسیل در اتصال به پپتیدوگلیکان نقش دارد. فعالیت این باکتریوسین مانند یک اندوپپتیداز است که پیوند بین گلایسین-گلایسین را در پل پنتاپپتیدی پپتیدوگلیکان در استافیلوکوک‌ها بُرش می‌دهد. باکتری مولد لیزوستافین فاقد پروتئین ایمنی است و به‌جای آن حاوی ژن lif است که توسط پلاسمید کُد می‌شود. این ژن مسئول اضافه کردن اسید آمینه سرین به پل پنتاپپتیدی است.[۵۳]

IV: باکتریوسین‌های حلقوی

در گذشته باکتریوسین‌های حلقوی در گروه دوم گروه‌بندی می‌شدند اما براساس تقسیم‌بندی جدید این گروه از باکتریوسین‌ها در گروه جداگانه‌ای قرار گرفته‌اند. باکتریوسین‌های حلقوی دارای تغییرات پس از ترجمه هستند، اما از آنجایی که نوع این تغییرات با تغییرات پس از ترجمه در گروه اول متفاوت است طبقه‌بندی آن‌ها به عنوان زیرگروه گروه‌های اول و دوم چندان مورد قبول نیست و در اکثر گروه‌بندی‌ها آن‌ها را در گروه جداگانه‌ای قرار داده‌اند. ساختار حلقوی در این باکتریوسین‌ها با پیوند آمیدی بین انتهای کربوکسیل و انتهای آمین پپتید ایجاد می‌شود. این گروه نیز به دو زیرگروه تقسیم می‌شود. زیرگروه اول که شامل پپتیدهای کاتیونی با نقطه ایزوالکتریک بالا (حدود ۱۰) و زیرگروه دوم شامل پپتیدهایی با اسید آمینه‌های اسیدی و نقطه ایزوالکتریک

پایین (حدود ۵) است. باکتریوسین‌ها در زیرگروه دوم دارای شباهت‌های بالایی در توالی خود هستند.[۵۴]

اپرون تولید باکتریوسین‌های حلقوی می‌تواند روی پلاسمید و یا روی کروموزوم قرار گرفته باشد. مطالعه روی این اپرون‌ها نشان می‌دهد که همه آن‌ها دارای توانایی کُد کردن یک یا چند پروتئین محلول متصل‌شونده به ATP و یک پپتید هیدروفوب (احتمالاً در ایجاد ایمنی بر ضدباکتریوسین در سویه تولیدکننده نقش دارد) هستند. این پپتیدها به‌صورت خطی و با ریبوزوم‌ها سنتز می‌شوند و سپس با حذف پپتید راهنما و تغییرات پس از ترجمه به شکل حلقوی در می‌آیند. مکانیسم دقیق این حلقوی شدن به‌طور کامل شناخته نشده است. به علت ساختار حلقوی، این باکتریوسین‌ها به انواع آنزیم‌های پروتئولیتیک مقاوم‌اند و در دامنه وسیعی از pH و دما فعالیت می‌کنند. اکثر باکتریوسین‌های حلقوی دارای چندین موتیف عبورکننده از غشا هستند.[۵۴]

گرچه اکثر باکتریوسین‌ها با ایجاد منفذ فقط در دیواره باکتری‌های گرم مثبت منجر به مرگ آن‌ها می‌شوند، باکتریوسین‌های حلقوی در غلظت‌های بالاتر روی غشای باکتری‌های گرم منفی نیز مؤثرند. در نهایت گرچه در گروهی از طبقه‌بندی‌ها باکتریوسین‌های حلقوی را در زیرگروه باکتریوسین‌های گروه II مطالعه می‌کنند، ولی این دسته از باکتریوسین‌ها نه تنها از نظر تغییرات پس از ترجمه با گروه II متفاوتند بلکه از نظر مکانیسم بیوسنتز نیز بسیار پیچیده‌تر هستند.[۵۳]

V: باکتریوسین‌های ترکیبی

این گروه باکتریوسین‌های متشکل از جزء پروتئینی به همراه لیپید و یا کربوهیدرات هستند. حساسیت این باکتریوسین‌ها به آنزیم‌های لیپولیتیک و گلیکولیتیک وجود آن‌ها را تأیید می‌کند. این باکتریوسین‌ها اخیراً به طبقه‌بندی باکتریوسین‌ها اضافه شده‌اند. مطالعه‌های جدید نشان می‌دهد که باکتریوسین سوبلانسین که در ابتدا به عنوان لانتی‌بیوتیک شناخته می‌شد برای فعالیت ضدمیکروبی خود به کربوهیدرات احتیاج دارد. باکتریوسین سوبلانسین ۱۶۸ (BAC062) گلیکوپپتید دارای فعالیت ضدمیکروبی است. وزن این باکتریوسین ۱/۳ کیلودالتون پیش‌بینی می‌شود که در واقع از وزن واقعی آن کم‌تر است. وزن حقیقی این باکتریوسین به‌علت حضور کربوهیدرات ۳/۸ کیلودالتون می‌شود. نقش کربوهیدرات در این دسته از باکتریوسین‌ها هنوز مشخص نشده است.[۵۵]

مقاومت به باکتریوسین:

مقاومت علیه باکتریوسین‌ها گرچه به تعداد کم ولی در گروهی از باکتری‌ها مشاهده شده است. برای مثال سلول مقاوم می‌تواند دارای گیرنده‌های جهش یافته باشد یا فاقد رسپتورهای لازم برای اتصال باکتریوسین به غشا. گزارش‌هایی مبنی بر ایجاد منافذ ناپایدار یا حضور پروتئازها در سلول مقاوم وجود دارد. در مطالعه بر روی سویه‌های لیستریا مونوسیتوژنز مقاوم به نایسین مشخص شد که این سویه‌ها ترکیب غشای خود را به گونه‌ای تغییر داده‌اند که مانع نفوذ نایسین به درون سلول می‌شود. این نوع مقاومت در سویه‌هایی از لیستریا که برای مدت طولانی در تماس با نایسین بودند دیده شده است.[۵۶] بنا بر تحقیق دیگری که بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به نایسین انجام شد، پروتئین NsrRS در مقاومت این سویه‌ها نقش دارد. پروتئین NsrRS باعث تنظیم بیان پروتئین NsrX می‌شود که همانند پروتئین ایمنی NisI عمل می‌کند.[۱۷]

روش‌های شناسایی باکتریوسین‌ها:

ردیابی باکتریوسین‌ها بر پایه روش‌های کلاسیک شناسایی آنتی‌بیوتیک‌ها است.[۵۷] در این روش‌ها فعالیت ضدمیکروبی باکتریوسین علیه سویه اندیکاتور بررسی می‌شود. میزان فعالیت با قطر هاله عدم رشد نسبت مستقیم دارد. به‌جز روش‌های کلاسیک روش‌های دیگری که در ردیابی پپتیدهای ضدمیکروبی کاربرد دارند شامل؛

روش‌های کدورت سنجی، روش‌های مولکولی (PCR)، روش‌های ایمونولوژیکی (ELISA) و شناسایی با روش جذب و یونش لیزری با بافت (MALDI-TOF) می‌باشند. هرکدام از این روش‌ها معایب و مزایای خود را دارند. روش‌های کدورت سنجی با داشتن سرعت زیاد، غربال‌گری تعداد زیادی از نمونه‌ها را امکان‌پذیر می‌کند. با این حال هنوز هم برای پیدا کردن نمونه‌های ضدمیکروبی روش اندازه‌گیری قطر هاله به دلیل دقت تقریباً بالای آن ترجیح داده می‌شود. روش‌های مولکولی نیز اگرچه دارای دقت بالایی هستند و باکتریوسین را در مقادیر کم شناسایی می‌کنند اما به دلیل هزینه بالا چندان همه‌گیر نیستند. روش‌های ایمونولوژیکی سرعت بالایی دارند ولی علاوه بر هزینه‌های بالا در شناسایی پپتیدهای زیر ۵ کیلودالتون (این پپتیدهای کوچک ایمونوژن‌های ضعیفی هستند) چندان مؤثر نیستند.[۵۸]

❋بحث و نتیجه‌گیری:

باکتریوسین‌ها پپتیدهای ضدمیکروبی سنتز شده توسط باکتری‌ها و معمولاً زیر ۱۰ کیلودالتون هستند که به سویه مولد مزیت غلبه بر سایر ارگانیسم‌های محیط را می‌دهند و به‌این ترتیب در این رقابت بر سایر سویه‌ها پیروز می‌شوند. این پپتیدهای ضدمیکروبی در غلظت‌های نانومولار فعالیت می‌کنند و فاقد اثر سمیت در سلول‌های یوکاریوتی هستند. باکتریوسین‌ها می‌توانند اثر کُشندگی و یا مهارکنندگی روی سلول هدف خود ایجاد کنند که به میزان باکتریوسین، میزان خلوص باکتریوسین و مرحله فیزیولوژیکی باکتری هدف بستگی دارد.

بنابر شواهد حاضر باکتریوسین‌ها ترکیبات مؤثری برای کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فاسدکننده مواد غذایی هستند. گرچه استفاده صنعتی از اکثر آن‌ها هنوز در مرحله آزمایشی قرار دارد اما تاریخ کاربرد گسترده آن‌ها در صنعت خیلی دور به نظر نمی‌رسد. محیط امن مواد غذایی می‌تواند یا به واسطه حضور باکتریوسین‌ها و یا به علت حضور تولیدکنندگان باکتریوسین به‌عنوان آغازگر ایجاد شود. علاوه بر این، احتمال استفاده از باکتریوسین‌های نوترکیب با کارایی و پایداری بیش‌تر در سال‌های آینده دور از انتظار نیست. از طرفی در بحث باکتریوسین‌ها باید عوارض جانبی و احتمال ظهور سویه‌های مقاوم هم بررسی شود. با این تفاسیر مطالعه در زمینه باکتریوسین‌ها مسیر درازی است که ما هنوز در ابتدای آن هستیم.

❋مراجع:

1. Cizeikiene D, Joudeikiene G, Paskevcius A, Bartkiene E. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. Food Control 2013; 31(2): 539-45. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.12.004.

2. Chopra L, Singh G, Kumar Jena K, Sahoo DK. Sonorensin: A new bacteriocin with potential of an anti-biofilm agent and a food biopreservative. Sci Rep 2015; 5: 13412. doi: 10.1038/srep13412.

3. Mirdamadi S, Agha Ghazvini S. A comparative study between inhibitory effect of L. lactis and nisin on important pathogenic bacteria in Iranian UF Feta cheese. Biological J Microorganism 2015; 3(12): 79- 92.

4. Parada JL, Caron CR, Medeiros ABP, et al. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. Braz Arch Biol Techn 2007; 50(3): 512-42.

5. Mirdamadi S, Miani S, Alinaghizadeh N. Isolation of lactic acid bacteria for functional food production. 20th Congress in Food Industry. 2012; Shrif Univ, Tehran, Iran: 20-2. [In Persian]

6. Pieterse R, Todorov SD. Bacteriocins-exploring alternatives to antibiotics in mastitis treatment. Braz J Microbiol 2010;

41(3): 542-62. doi: 10.1590/S1517-83822010000300003.
7. Mirzaei M, Mirdamadi S, Ehsani MR, Aminlari M, Hosseini E. Purification and identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptide from Saccharomyces cerevisiae protein hydrolysate. J Funct Foods 2015; 19: 259-68. doi: 10.1016/j.jff.2015.09.031.
8. Moslehishad M, Ehsani MR, Salami M, Mirdamadi S, Ezzatpanah H, Niasari Naslaji A, et al. The comparative assessment of ACE-inhibitory and antioxidant activities ofpeptide fractions obtained from fermented camel and bovine milk by Lactobacillus rhamnosus PTCC 1637. Int Dairy J 2013; 29(2): 82-7. doi: 10.1016/j.dairyj.2012.10.015.
9. Gillor O, Etzion A, Riley MA. The dual role of bacteriocins as anti - and probiotics. Appl Microbiol Biotechnol 2008; 81(4): 591-606. doi: 10.1007/s00253-008-1726-5.
10. Sobrino-López A, Martín-Belloso O. Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. Int Dairy J 2008; 18(4): 329-43. doi: 10.1016/j.idairyj.2007.11.009.
11. Rea M, Ross RP, Cotter P, Colin Hill. Classification of bacteriocins from gram-positive bacteria . In: Drider D, Rebuffat S, editors. Prokaryotic antimicrobial peptides. 1st ed. New York: Springer; 2011. 29-53.
12. Toldra F, Hui Y. H, Astiasaran A, Sebranek J. G, Talon R. Handbook of fermented meat and poultry. 1st Edition. New York: John wily and sons; 2014. 132-5.
13. Ndlovu B, Schoeman H, Franz CM, du Toit M. Screening, identification and characterisation of bacteriocins produced by the wine - isolated LAB strains. J Appl Microbiol 2015; 118(4): 1007-22. doi: 10.1111/jam.12752.
14. Hammami R, Zouhir A, Ben Hamida J, Fliss I. BACTIBASE: a new web-accessible database for bacteriocin characterization. BMC Microbiol 2007; 7(89). doi: 10.1186/1471-2180-7-89.
15. Zhang J, Liu G, Li P, Qu Y. Pentocin 31-1, a novel meat-borne bacteriocin and its application as biopreservative in chill-stored tray-packaged pork meat. Food Control 2010; 21(2): 198-202. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.05.010.
16. Dobson A, Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocin production: a probiotic trait? Appl Environ Microbiol 2012; 78(1): 1-6. doi: 10.1128/AEM.05576-11.
17. Allen H. K, Trachsel J, Looft T, Casey T. Finding alternatives to antibiotics. Ann N. Y Acad Sci 2014; 1323(1): 91-100. doi: 10.1111/nyas.12468.
18. Perez RH, Zendo T, Sonomoto K. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. Microb Cell Fact 2014; 13 Suppl 1: S3. doi: 10.1186/1475-2859-13-S1-S3.
19. Martin-Visscher LA, Yoganathan S, Sit CS, Lohans CT, Vederas JC. The activity of bacteriocins from Carnobacterium maltaromaticum UAL307 against gram-negative bacteria in combination with EDTA treatment. FEMS Microbiol Lett 2011; 371(2): 152-9. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02223.x.
20. Heng NK, Wescombe P, Burton J, Jack R, Tagg J. The diversity of bacteriocins in gram-positive bacteria. 1st ed. New York. Springer Berlin Heidelberg; 2007. 45-92. doi: 10.1007/978-3-540-36604-1_4
21. Todorov SD. Bacteriocins from Lactobacillus plantarum production, genetic organization and mode of action. Braz J

Microbiol 2009; 40: 209-21.
22. Mirdamadi S, Fallahpour M, Ahmadi Behazin H. Assessing the inhibitory effect of lactococcus lactis as a probiotic bacteia on food - born spoilage andpathogenic bactera. 1st National Conference of Probiotic and Functional Food 2010; 21-22 April, Tehran, Iran. 36-7.
23. Jong A, Hijum S, Bijlsma J, Kok J, Kuipers O. BAGEL: a web-based bacteriocin genome mining tool. Nucleis Acids Res 2006; 34(1): 273-9.
24. Tafreshi S H, Mirdanadi S, Norouzian D, Khatami S, Sardari S. Effect of non-nutritional factors on nisin production. Afr J Biotechnol 2010; 9(9): 1382-91.
25. Tafreshi S H, Mirdamadi S. Survey study of lipid effect on nisin nonoliposom formation and application pasturized milk as a food model. Applied Food Biotechnol 2015; 2.
26. Desriac F, Defer D, Bourgougnon N, Brillet B, Le Chevalier P, Fleury Y. Bacteriocin as Weapons in the Marine Animal-Associated Bacteria Warfare: Inventry and Potential Application as an Aquatic Probiotic. Mar Drugs 2010; 8(4): 1153-77. doi: 10.3390/md8041153.
27. Zouhir A, Hammami R, Fliss I, Hamida JB. A new structure-based classification of gram-positive bacteriocins. Protein J 2010; 29(6): 432-9. doi: 10.1007/s10930-010-9270-4.
28. O'Sullivan O, Begley M, Ross PR, Cotter PD, Hill C. Further identification of novel lantibiotic operons using LanM-based genome mining. Probiotics Antimicrob Proteins 2011; 3(1): 27-40. doi: 10.1007/s12602-011-9062-y.
29. Willey JM, van der Donk WA. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function. Annu Rev Microbiol 2007; 61: 477-501.
30. Jung G. Enzyme-catalyzed sulfide ring formation in lantibiotics. Angew Chem Int Ed Engl 2006; 45(36): 5919-21.
31. Nes IF, Yoon S-S, Diep D. Ribosomally synthesiszed antimicrobial peptides (Bacteriocins) in lactic acid bacteria: a review. Food Sci Biotechnol 2007; 16(5): 675-90.
32. Christ K, Wiedemann I, Bakowsky U, Sahl HG, Bendas G. The role of lipid II in membrane binding of and pore formation by nisin analyzed by two combined biosensor techniques. Biochim Biophys Acta 2007; 1768(3): 694-704.
33. Riley MA, Gillor O. Research and applications in bacteriocins. 1st Edition. UK: horizon bioscience; 2007. 181-215.
34. Drider D, Rebuffat S. Prokaryotic antimicrobial peptides: from genes to applications. 1st ed. New York. Springer-Verlag; 2011. 147-169. doi: 10.1007/978-1-4419-7692-5
35. Paiva AD, Breukink E, Mantovani HC. Role of lipid II and membrane thickness in the mechanism of action of the lantibiotic bovicin HC5. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55(11): 5284-93. doi: 10.1128/AAC. 00638-11.
36. Gut IM, Blanke SR, van der Donk WA. Mechanism of inhibition of Bacillus anthracis spore outgrowth by the lantibiotic nisin. ACS Chem Biol 2011; 6(7); 744-52. doi: 10.1021/ cb1004178.
37. Bierbaum G, Sahl HG. Lantibiotics: mode of action, biosynthesis and bioengineering. Curr Pharm Biotechnol 2009; 10(1): 2-18.
38. Parada JL, Caron CR, Medeiros AB, Soccol CR. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as

biopreservatives. Braz Arch Biol Techn 2007; 5(3): 521-42.
39. Liu G, Lv Y, Li P, Zhou K, Zhang J. Pentocin 31-1, an anti-Listeria bacteriocin produced by Lactobacillus pentosus 31-1 isolated from Xuan-Wei Ham, a traditional China fermented meat product. Food Control 2008; 19(4): 353-9. doi: 10.1016/j.foodcont. 2007.04.010.
40. Eijsink VGH, Axelsson L, Diep DB, Havarstein LS, Holo H, Nes IF. Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of bi5ological warfare and communication. Antonie van Leeuwenhoek 2002; 81(1): 639-54. doi: 10.1023/A: 1020582211262.
41. Nissen-Meyer PR J, Oppegård C, Haugen H.S, et al. Structure-function relationships of the non-lanthionine-containing peptide (class II) bacteriocins produced by gram-positive bacteria. Curr Pharm Biotechnol 2009; 10(1): 19-37.
42. Nieto-Lozano JC, Reguera-Useros JI, Peláez-Martínez MdC, Sacristán-Pérez-Minayo G, Gutiérrez-Fernández AJ, Hardisson de la Torre A. The effect of the pediocin PA-1 produced by Pediococcus acidilactici against Listeria monocytogenes and Clostridium perfringens in Spanish dry-fermented sausages and frankfurters. Food Control 2010; 21(5): 679-85. doi: 1016/j. foodcont.2009.10.007.
43.Cui Y, Zhang C, Wang Y, Shi J, Zhang L, Ding Z, et al. Class IIa bacteriocins: diversity and new developments. Int J Mol Sci 2012; 13(12): 16668-707. doi: 10.3390/ijms 131216668.
44. Acedo JZ, van Belkum MJ, Lohans CT, McKay RT, Miskolzie M, Vederas JC. Solution structure of acidocin B, a circular bacteriocin produced by Lactobacillus acidophilus M46. Appl Environ Microbiol 2015; 81(8): 2910-8. doi: 10.1128/AEM. 04265-14.
45. Lohans CT, Vederas JC. Development of class IIa bacteriocins as therapeutic agents. Int J Microbiol 2012; 2012: 386410. doi: 10.1155/2012/386410.
46. Nes I. F, Yoon S, Diep D. Ribosomally synthesized antimicrobial peptides (Bacteriocins) in Lactic Acid Bacteria: a Review. Food Sci Bio Technol 2007; 16(5): 675-90.
47. Sabo S da S, Vitolo M, Domínguez González JM, de Souza RP. Overview of Lactobacillus plantarum as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. Food Res Int 2014; 64: 527-36. doi: 10.1016/j.foodres.2014.07.041.
48. Oppegard C, Rogne P, Emanuelsen L, Kristiansen PE, Fimland G, Nissen-Meyer J. The two-peptide class II bacteriocins: structure, production, and mode of action. J Mol Microbiol Biotechnol 2007; 13(4):210-9.
49. Nissen-Meyer J, Oppegard C, Rogne P, Haugen HS, Kristiansen PE. Structure and mode-of-action of the two-peptide (class-IIb) bacteriocins. Probiotics Antimicrob Proteins 2010; 2(1): 52-60. doi: 10.1007/s12602-009-9021-z.
50. Jørgenrud BM. Construction of a heterologous expression vector for plantaricin F, one of the peptides constituting the two-peptide bacteriocin plantaricin EF. Master thesis. Department of molecular bioscience. Faculty of mathematics and natural sciences. Univ Oslo. 2009; 1-16.
51. Kjos M, Oppegard C, Diep DB, Nes IF, Veening JW, Nisse - Meyer J, et al. Sensitivity to the two-peptide bacteriocin lactococcin G is dependent on UppP, an enzyme involved in cell-wall synthesis. Mol

Microbiol 2014; 92(6): 1177-87. doi: 10. 1111/mmi.12632.
52. Sonomoto K, Yokota A. Lactic acid bacteria and bifidobacteria: current progress in advanced research. Int J Food Tech 2011; 65(3): 462-4.
53. Roces C, Rodríguez A, Martínez B. Cell wall active bacteriocins 1 and their applications beyond antibiotic activity. Probiotics Antimicrob Proteins 2012; 4(4): 259-72. doi: 10.1007/s12602-012-9116-9.
54. van Belkum MJ, Martin-Visscher LA, Vederas JC. Structure and genetics of circular bacteriocins. Trends Microbiol 2011; 19(8): 411-8. doi: 10.1016/j.tim.2011.04.004.
55. Bogovič - Matijašić B, Rogelj I. Bacteriocin complex of Lactobacillus acidophilus LF221 - production studies in MRS media at different pH values and effect against Lactobacillus helveticus ATCC 15009. Process Biochem 1998; 33(3): 345-52. doi: 10.1016/S0032-9592(97)00073-3.
56. Dündar H. Characterization and purification of a bacteriocin produced by leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris. Doctor of philosophy thesis. School of natural and applied science. Middle East Technical Univ 2006; 5-35.
57. Tangestani M, Mirdamadi S. Screening and characterization of bacteriocins produced by some strains of Lactobacillus spp. Isolated from Iranian dairy products. J Food Hyg 2011; 1(3): 55-70. [In Persian]
58. Leversee JA, Glatz BA. Detection of the bacteriocin propionicin PLG-1 with polyvalent anti-PLG-1 antiserum. Appl Environ Microbiol 2001; 67(5): 2235-9.