

## Bacteriocins: New generation of antimicrobial peptides

P. Motahari<sup>1</sup>, Z. Amini-Bayat<sup>1</sup>, S. Mirdamadi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>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 19<sup>th</sup> 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 ضد میکروبی

پریا مطهری<sup>۱</sup>، دکتر زهرا امینی بیات<sup>۱</sup>، دکتر سعید میردامادی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه بیوتکنولوژی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسؤؤل: 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 ضد میکروبی 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 ۱۹۲۵ پیدا شد. باکتریوسین‌ها، پپتیدها یا پروتئین‌های سنتز شده توسط ریبوزوم‌ها هستند که دارای طیف متنوعی از فعالیت ضد میکروبی هستند و توسط گروه وسیعی از باکتری‌ها تولید می‌شوند. استفاده از این مولکول‌های ضد میکروبی در صنایع غذایی نیاز مصرف‌کننده قرن جدید را که به دنبال ماده غذایی ایمن و با کم‌ترین دخالت ترکیبات شیمیایی است مرتفع می‌کند. نایسین اولین باکتریوسین راه یافته به صنعت است که مطالعه‌های زیادی را به خود 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 ضد میکروبی هر پنج گروه باکتریوسین در باکتری‌های گرم مثبت، این گروه پپتیدی را از ژن تا عملکرد مورد مطالعه قرار داده است.

**کلیدواژه‌ها:** باکتریوسین، فعالیت ضد میکروبی، ساختار، طبقه‌بندی

### \*مقدمه

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.<sup>(۳)</sup> لذا توجه محققین در سراسر دنیا به تولید و شناسایی ترکیبات ضد میکروبی جدید معطوف شده است.<sup>(۴)</sup> باکتری‌ها از جمله مهم‌ترین کاندیدهای تولید این گونه ترکیبات ضد میکروبی هستند. در بین این ترکیبات، باکتریوسین‌ها مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته‌اند.<sup>(۵)</sup> باکتریوسین‌ها متابولیت‌های پروتئینی و معمولاً با وزن مولکولی زیر ۱۰ کیلوالتون

توجه روزافزون به سبک زندگی در سال‌های اخیر تمایل افراد جامعه را به سمت استفاده از غذاهای طبیعی بیش‌تر کرده است.<sup>(۱)</sup> 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 مواد غذایی 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.<sup>(۲)</sup>

استفاده می‌شود.<sup>(۱۴)</sup> پدیوسین هم به منظور حفظ ایمنی و افزایش زمان نگه‌داری انواع پنیر، سالاد و گوشت به کار می‌رود.<sup>(۱۵)</sup> 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.<sup>(۱۶)</sup> با توجه به شباهت عملکرد در مقالات، معمولاً باکتریوسین‌ها با آنتی‌بیوتیک‌ها اشتباه می‌شوند (جدول شماره ۱).

#### جدول ۱ - تفاوت آنتی‌بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها<sup>(۴)</sup>

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	رستپور 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 ضد میکروبی 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 ضد میکروبی 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.<sup>(۱۷ و ۱۸)</sup> با وجود

هستند که توسط ریبوزوم‌ها سنتز می‌شوند و فعالیت ضد میکروبی خود را بر علیه سویه‌های نزدیک به مولد باکتریوسین و یا سویه‌های دورتر نشان می‌دهند.<sup>(۷)</sup> در سال‌های اخیر توجه بسیاری به پپتیدهای فعال زیستی شده است. این پپتیدها گروه متنوعی از پری‌پروپپتیدها با فعالیت فیزیولوژیکی (ضد اکسیدانی، ضد فشارخون، کاهش کلسترول، بهبود سیستم ایمنی، ضد میکروبی 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.<sup>(۹ و ۱۰)</sup>

نتایج تحقیق‌ها نشان می‌دهد که درصد قابل توجهی از باکتری‌ها و آرکیاها قابلیت تولید باکتریوسین را دارند.<sup>(۱۰)</sup> حتی فرضیه‌ای مبنی بر این که تمام باکتری‌ها قابلیت تولید حداقل یک نوع باکتریوسین را دارند نیز در برخی از منابع به چشم می‌خورد.<sup>(۱۱ و ۱۲)</sup> 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.<sup>(۱۳)</sup>

استفاده از باکتریوسین‌ها به‌عنوان نگه‌دارنده زیستی ملزم به داشتن شرایطی است از جمله: سویه تولیدکننده باید واجد شرایط سویی 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.<sup>(۱۲ و ۱۴)</sup> 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

خارجی را می‌گیرد. به طور معمول باکتریوسین‌ها روی باکتری‌های گرم منفی اثر مهاری چندانی نمی‌گذارند.<sup>(۱۹)</sup> 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<sup>(۲۰)</sup>

#### I: لانتی‌بیوتیک‌ها

لانتی‌بیوتیک‌ها، پپتیدهای دارای تغییرات پس از ترجمه هستند و در ساختار آن‌ها اسید آمینه‌های غیرمعمول مانند لانتینین دیده می‌شود. این پپتیدها معمولاً کوچک و دارای وزن مولکولی کمتر از ۵ کیلو دالتون هستند.<sup>(۲۱)</sup> 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).<sup>(۱۵)</sup> 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.<sup>(۲۲)</sup>

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.<sup>(۱۴)</sup> این مقاله مروری سعی در شناسایی، بررسی ساختار و عملکرد ضد میکروبی نسل جدید جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها دارد.<sup>(۱۵)</sup>

#### \* 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 ضد میکروبی، وزن مولکولی، پایداری، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و نحوه عملکرد ضد میکروبی گروه متنوعی از پپتیدهای ضد میکروبی را تشکیل می‌دهند که این موارد می‌توانند مبنای طبقه‌بندی باشند.<sup>(۴)</sup> براساس طیف اثر می‌توان باکتریوسین‌ها را در دو گروه جای داد: گروه اول که اثر ضد میکروبی 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

جدول ۲- نام، گروه، باکتری مولد، تعداد اسید آمینه، عملکرد ضد میکروبی و کُد Uniprot باکتریوسین‌ها از پایگاه داده BAGEL<sup>(۲۳)</sup>

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

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. LanC و LanB دو ژن سازنده این آنزیم‌ها هستند. آنزیم کُد شده توسط ژن LanB در دهیدراسیون سرین و ترئونین و ایجاد دهیدروآلانین و دهیدروبوترین دخالت دارد. پروتئین LanC ایجاد حلقه در دهیدروآلانین و دهیدروبوترین را کاتالیز می‌کند و به این ترتیب لانتیونین و متیل لانتیونین ایجاد می‌شود.<sup>(۲۸)</sup>

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.<sup>(۲۹)</sup> سنتز لانتی‌بیوتیک‌ها با دهیدراسیون اسید آمینه‌های سرین و ترئونین و سنتز دهیدروآلانین و دهیدروبوترین (به ترتیب) 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

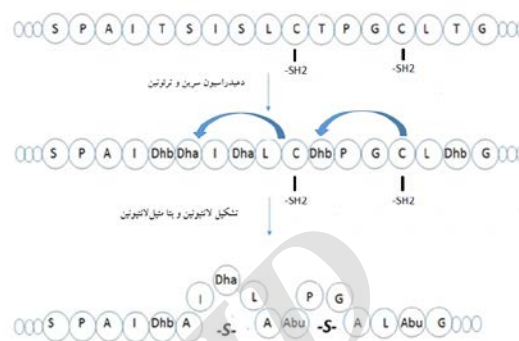
نایسین اولین باکتریوسینی است که تأییدیه سازمان غذا و دارو در امریکا را کسب کرده است و امروزه در بیش از ۴۸ کشور جهان به عنوان نگه‌دارنده مواد غذایی استفاده می‌شود.<sup>(۲۵و۲۴)</sup> لانتی‌بیوتیک‌ها براساس ساختار و عملکرد ضد میکروبی در دو گروه قرار می‌گیرند: زیر گروه A شامل پپتیدهای خطی و کاتیونی دارای حداکثر ۳۴ اسید آمینه که مکانیسم عمل ضد میکروبی این گروه تخریب غشای سلول هدف است. زیر گروه B پپتیدهای حلقوی و دارای حداکثر ۱۹ اسید آمینه هستند و با هدف قرار دادن آنزیم‌های سلول هدف اعمال حیاتی آن را متوقف می‌کنند.<sup>(۲۶)</sup> با وجود این طبقه‌بندی اکثر باکتریوسین‌ها دارای فعالیت بینابینی هستند. برای مثال نایسین دارای هر دو 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.<sup>(۲۷)</sup>

#### 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.

دهیدروبوترین هدف این حمله باشد متیل لانتیونین ایجاد می‌شود. به دلیل وجود این پل‌های درون مولکولی لانتی‌بیوتیک‌ها ساختار چند حلقه‌ای دارند<sup>(۳۰،۳۶)</sup> (شکل شماره ۱).

دهیدروبوترین هدف این حمله باشد متیل لانتیونین ایجاد می‌شود. به دلیل وجود این پل‌های درون مولکولی لانتی‌بیوتیک‌ها ساختار چند حلقه‌ای دارند<sup>(۳۰،۳۶)</sup> (شکل شماره ۱).



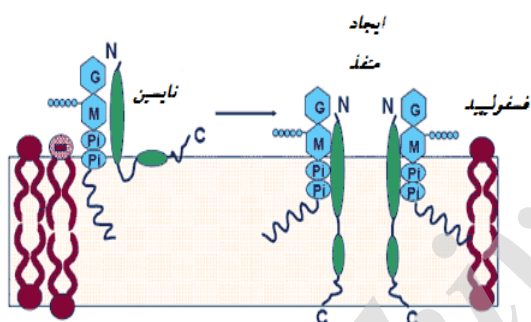
شکل ۱- تغییرات پس از ترجمه در لانتی‌بیوتیک‌ها

وجود حلقه‌ها و سایر تغییرات پس از ترجمه که در لانتی‌بیوتیک‌ها دیده می‌شود در مقاومت حرارتی و مقاومت به پروتئازها و همچنین فعالیت ضد میکروبی 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 اثر ضد میکروبی آن در امان می‌ماند.<sup>(۳۱)</sup> 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 ضد میکروبی می‌پردازد. در اپرون لانتی‌بیوتیک‌ها ژن‌های تنظیم‌کننده سنتز باکتریوسین هم ردیابی شده است که با کنترل رونویسی، عمل سنتز باکتریوسین را تنظیم می‌کنند.<sup>(۲۸)</sup>

سنتز لانتی‌بیوتیک‌ها با دهیدراسیون اسید آمینه سرین (S) و ترئونین (T) و ایجاد دهیدروآلانین (Dha) و دهیدروبوترین (Dhb) (به ترتیب) آغاز می‌شود. به دنبال

### مکانیسم عمل ضد میکروبی لانتی‌بیوتیک‌ها:

فعالیت ضد میکروبی 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 ضد میکروبی نایسین

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

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. زیر گروه 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.<sup>(۳۹)</sup> زیر گروه IIb باکتریوسین‌های دو پپتیدی هستند و زیر گروه IIc باکتریوسین‌های خطی بدون تغییرات پس از ترجمه متفاوت با گروه پدیوسین‌ها می‌باشند.<sup>(۴۰)</sup>

### زیر گروه IIa:

توجه ویژه به باکتریوسین‌های زیر گروه 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.<sup>(۴۱)</sup> 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 غیر موازی  $\beta$  تشکیل شده است که با یک پیوند دی‌سولفیدی پایدار شده است. دمین انتهای کربوکسیل دارای ساختار  $\alpha$  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 ضد میکروبی آن نیز مؤثر است.<sup>(۴۲)</sup> پپتیدهای این گروه بر اساس ساختار سه بُعدی، نواحی حفاظت شده در ساختار اولیه و مکانیسم ضد میکروبی به ۸ زیر گروه تقسیم می‌شوند.<sup>(۴۳)</sup> مطالعه‌های حاصل از ساختار سه بُعدی در

دنبال اتصال اولیه بین انتهای آمین با مولکول لیپید II، دمین انتهای کربوکسیل به سمت داخل غشا کشیده و در نهایت منفذ ایجاد می‌شود.<sup>(۳۳)</sup> ورود پپتیدها به داخل غشا به صورت عمودی و حول یک کانال مرکزی است. سمت آبدوست پپتیدها به سمت مرکز منفذ و سمت آب‌گریز به سمت لیپیدهای غشا است. از این رو این سبک ایجاد منفذ را مدل "شیار- بشکه" می‌نامند.<sup>(۳۴)</sup> 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 به گونه‌ای که حذف لیپید II در سلول‌های حساس منجر به کاهش اثر ضد میکروبی 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.<sup>(۳۵)</sup> 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 ضد اسپوری نایسین حتی با حذف دهیدروآلانین نیز وجود دارد.<sup>(۳۷،۳۶)</sup>

مکانیسم ضد میکروبی نایسین: اتصال اولیه نایسین با غشا به کمک دمین انتهای آمین با پیروفسفات در مولکول لیپید II و از طریق پیوندهای هیدروژنی صورت می‌گیرد. به دنبال اتصال اولیه بین انتهای آمین با مولکول لیپید II، دمین انتهای کربوکسیل به سمت داخل غشا کشیده شده و در نهایت منفذ ایجاد می‌شود.<sup>(۳۳)</sup>

### II: باکتریوسین‌های کوچک و فاقد تغییرات پس از ترجمه

گروه دوم باکتریوسین‌ها خود به ۳ زیر گروه طبقه‌بندی می‌شوند. این پپتیدها معمولاً زیر ۱۰ کیلودالتون وزن دارند.<sup>(۳۸)</sup> ۲۳۶ باکتریوسین از این گروه در بانک اطلاعاتی BAGEL ثبت شده است. کوچک‌ترین باکتریوسین این

انتقال دهنده 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.<sup>(۴۱)</sup> علاوه بر این حضور پپتید راهنما باعث غیرفعال نگه‌داشتن باکتریوسین در فضای داخل سلولی نیز می‌شود.

### مکانیسم ایمنی و ضد میکروبی در باکتریوسین زیر گروه 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 به صورت 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.<sup>(۴۶)</sup>

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 زیر واحد تشکیل شده است. زیر واحد IIC (یک پروتئین غشایی است) این آنزیم نقش رسپتور را برای باکتریوسین‌های این گروه ایفا می‌کند.

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.<sup>(۴۴)</sup>

### سنتز و تنظیم بیان زیر گروه IIa:

حداقل ۴ ژن شامل؛ ژن کدکننده پپتید ضد میکروبی، ژن کدکننده پروتئین ایمنی، ژن کدکننده 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.<sup>(۴۵)</sup> 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.<sup>(۴۵)</sup> 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. به جز 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



برش می‌خورند. ژن‌های کُدکننده دو پپتید ضد میکروبی در کنار هم قرار دارند و به همین دلیل احتمالاً هر دو پپتید به میزان مساوی سنتز می‌شوند.<sup>(۴۸)</sup> پپتیدهای ضد میکروبی 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 قطعی 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.<sup>(۴۹)</sup> برای عملکرد ضد میکروبی این دسته از پپتیدها دو مدل "شیار-بشکه" و مدل "فرش" پیشنهاد شده است. در مدل اول هلیکس‌های کاتیونی دو پپتید به صورت 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.<sup>(۵۰)</sup> مکانیسم عمل این گروه از پپتیدهای ضد میکروبی در باکتریوسین لاکتوکوکسین جی به خوبی نشان داده شده است. دو پپتید تشکیل دهنده لاکتوکوکسین جی پس از برخورد به غشای سلول حساس از طریق ساختار ماریچ  $\alpha$  با موتیف GXXXG به هم متصل می‌شوند. انتهای کربوکسیل در زیرواحد  $\alpha$  که دارای بار مثبت است برهمکنش اولیه را تسهیل می‌کند. سپس هر دو زیرواحد در ایجاد منفذ با یکدیگر همکاری می‌کنند.<sup>(۵۱)</sup>

### زیر گروه IIC:

زیر گروه 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 به صورت پری باکتریوسین سنتز می‌شوند. پری باکتریوسین دارای دو گلاسیسین

رشته‌های  $\beta$  در انتهای آمین باکتریوسین به حلقه خارجی زیرواحد IIC متصل می‌شوند، به دنبال این اتصال  $\alpha$  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 انتقال دهنده دائمی و بدون برگشت مولکول‌های ضروری سلول تبدیل می‌شود.<sup>(۴۷)</sup> 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.<sup>(۴۸)</sup>

### زیر گروه IIb:

زیر گروه IIb، زیر گروه دیگر گروه II است که از دو پپتید کاملاً مجزا تشکیل شده است. حضور این دو پپتید برای فعالیت بهینه ضد میکروبی ضروری است.<sup>(۴۱)</sup> 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 به صورت 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 ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند.<sup>(۴۸)</sup>

### سنتز و مکانیسم عمل زیر گروه 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 گلاسیسین بوده و قبل از خروج از طریق سیستم ABC

باکتریوسین‌های این گروه اطلاعات چندان دقیقی درباره آن‌ها وجود ندارد. این پروتئین‌های ضد میکروبی خود به دو زیرگروه تقسیم می‌شوند. زیرگروه IIIa (باکتریولیزین) پروتئین‌های ضد میکروبی 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.<sup>(۵۲)</sup> 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 اندوپیتیداز است که پیوند بین گلایسین-گلایسین را در پل پنتاپپتیدی پپتیدوگلیکان در استافیلوکوک‌ها برش می‌دهد. باکتری مولد لیزوستافین فاقد پروتئین ایمنی است و به‌جای آن حاوی ژن *lif* است که توسط پلاسמיד کُد می‌شود. این ژن مسئول اضافه کردن اسید آمینه سرین به پل پنتاپپتیدی است.<sup>(۵۳)</sup>

#### 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

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 ضد میکروبی 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  $\alpha$  می‌گیرد و باعث جابه‌جایی لیپیدهای غشا و ایجاد منفذ می‌شود. این منفذ یکی از بزرگ‌ترین منافذی است که تا به حال 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.<sup>(۱۳)</sup>

#### 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 استریپتوکوکوس دیسگالاکتیا است) با ۲۲۰ اسید آمینه (وزن مولکولی ۲۴۵۲۹ کیلودالتون) کوچک‌ترین باکتریوسین این گروه است.<sup>(۵۲)</sup> برخلاف گروه‌های قبلی به دلیل تعداد اندک

ضدمیکروبی خود به کربوهیدرات احتیاج دارد. باکتریوسین سوبلانسنین 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.<sup>(۵۵)</sup>

### 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 سوبه‌های لیستریا مونوسیتوژنز مقاوم به نایسین مشخص شد که این سوبه‌ها ترکیب غشای خود را به گونه‌ای تغییر داده‌اند که مانع نفوذ نایسین به درون سلول می‌شود. این نوع مقاومت در سوبه‌هایی از لیستریا که برای مدت طولانی در تماس با نایسین بودند دیده شده است.<sup>(۵۶)</sup> بنا بر تحقیق دیگری که بر روی سوبه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به نایسین انجام شد، پروتئین NsrRS در مقاومت این سوبه‌ها نقش دارد. پروتئین NsrRS باعث تنظیم بیان پروتئین NsrX می‌شود که همانند پروتئین ایمنی NisI عمل می‌کند.<sup>(۱۷)</sup>

### روش‌های شناسایی باکتریوسین‌ها:

ردیابی باکتریوسین‌ها بر پایه روش‌های کلاسیک شناسایی آنتی‌بیوتیک‌ها است.<sup>(۵۷)</sup> در این روش‌ها فعالیت ضدمیکروبی باکتریوسین علیه سوبه 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؛

پایین (حدود ۵) است. باکتریوسین‌ها در زیرگروه دوم دارای شباهت‌های بالایی در توالی خود هستند.<sup>(۵۴)</sup>

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 سوبه 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.<sup>(۵۴)</sup>

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 بیوستنز نیز بسیار پیچیده‌تر هستند.<sup>(۵۳)</sup>

### 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 سوبلانسنین که در ابتدا به عنوان لانتی‌بیوتیک شناخته می‌شد برای فعالیت

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, Paskevicius 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;

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 ضد میکروبی 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.<sup>(۵۸)</sup>

#### \*بحث و نتیجه‌گیری:

باکتریوسین‌ها پپتیدهای ضد میکروبی سنتز شده توسط باکتری‌ها و معمولاً زیر ۱۰ کیلودالتون هستند که به سویه مولد مزیت غلبه بر سایر ارگانیسم‌های محیط را می‌دهند و به این ترتیب در این رقابت بر سایر سویه‌ها پیروز می‌شوند. این پپتیدهای ضد میکروبی در غلظت‌های نانومولار فعالیت می‌کنند و فاقد اثر سمیت در سلول‌های یوکاریوتی هستند. باکتریوسین‌ها می‌توانند اثر کشندگی 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

- 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 of peptide 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 bacteria on food - born spoilage and pathogenic bacteria. 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. Nucleic Acids Res 2006; 34(1): 273-9.
24. Tafreshi S H, Mirdamadi 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 nonliposom 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: Inventory 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 synthesized 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. 1<sup>st</sup> 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 biological 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: 10.1016/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/ijms131216668.
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. Leverage JA, Glatz BA. Detection of the bacteriocin propionicin PLG-1 with polyvalent anti-PLG-1 antiserum. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(5): 2235-9.

Archive of SID