Archive of SID.ir

کومش- جلد ۲۵، شماره ٤ (پیاپی ۹۶)، مرداد و شهریور ۱٤۰۲

معرفی ویژگی‌های اندولیزین به عنوان جایگزین برای آنتی‌بیوتیک

فرنوش مجلسین [۱](M.Sc Student)، شمس‌الضحی ابوالمعالی [۲](Ph.D)، شکیبا درویش علیپورآستانه [*۱](Ph.D)، نوشین بیجاری [۲](Ph.D)

۱- دانشکده بیوتکنولوژی، پردیس علوم و فناوری نوین، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳-۳۱۵۳۲۲۸۸ Darvishalipour@semnan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱

چکیده

ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک، به یک بحران جهانی برای سلامت عمومی تبدیل گردید. نگرانی‌های بسیاری در مورد افزایش سویه‌های باکتریایی مقاوم به چند دارو وجود دارد، به‌طوری‌که برخی از بیماری‌ها به طور موثر قابل درمان نیستند. بنابراین، نیاز فوری به توسعه جایگزین‌هایی برای آنتی‌بیوتیک‌های معمولی در درمان انسان و حیوانات وجود دارد. فعالیت ضدباکتریایی اندولیزین‌ها به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک، در برابر پاتوژن‌های باکتریایی متعدد مورد توجه هستند و در زمینه‌های مختلف کاربردی از جمله دارو، ایمنی غذا و کشاورزی طیف وسیعی از فعالیت را نشان می‌دهند. چندین ویژگی از این آنزیم‌ها، از جمله فعالیت بالا آن‌ها، به دلیل وجود دو حوزه کاتالیزوری، در ساختار آن است که احتمال ایجاد مقاومت را بیش‌تر کاهش می‌دهد و این یافته که آن‌ها با سایر عوامل ضد میکروب هم‌افزایی دارند، مکانیسم اثر و نوع فعالیت لیتیک آن‌ها بهره‌برداری بیش‌تر از آن‌ها را به عنوان عوامل ضدباکتری با ارزش و قوی برای درمان عفونت‌ها پشتیبانی می‌کند. در این بررسی ساختار و مکانیسم اثر اندولیزین و هم‌چنین مزایای آن به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک و مشکلاتی که در این زمینه وجود دارد، بیان شده است. در ادامه کاربردها و پیشرفت‌های اندولیزین بررسی و اندولیزین‌های جدید مهندسی شده به منظور غلبه بر محدودیت‌های موجود معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی: اندولیزین، آنتی‌بیوتیک، جایگزین ، فاژتراپی، مهندسی پروتئین

مقدمه

مسئله مقاومت آنتی‌بیوتیکی و اهمیت یافتن راه‌کارهای درمانی جایگزین. یکی از بزرگ‌ترین دستاوردهای بشر در قرن بیستم کشف آنتی‌بیوتیک بود. موفقیت آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های عفونی، علم پزشکی مدرن را متحول کرد ولی در شرایط کنونی آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت نادرست و نابه‌جا در درمان میکروب‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، میکروب‌های مقاوم به داروهای آنتی‌بیوتیکی در همه جا توزیع شده‌اند، حساسیت ضدمیکروبی در بسیاری از بیماران مبتلا به عفونت باکتریایی وجود ندارد و بروز عفونت ناشی از عوامل بیماری‌زای مقاوم به دارو در حال افزایش است [۱]. منطبق با مستندات سازمان غذا و دارو در ایالت متحده تخمین زده می‌شود، هر سال نزدیک به ۲ میلیون نفر در بیمارستان به عفونت مبتلا می‌شوند که منجر به مرگ نزدیک به ۹۰۰۰۰ نفر می‌شود. بیش از ۷۰ درصد باکتری‌هایی که باعث این عفونت‌ها می‌شوند حداقل به یکی از آنتی‌بیوتیک‌هایی که به طور معمول برای درمان استفاده می‌شوند مقاوم هستند. الگوهای مقاومت به چند دارو در باکتری‌های گرم مثبت و منفی منجر به پیدایش عفونت‌هایی شده است که با استفاده از داروهای معمول ضدمیکروبی به سختی درمان می‌شوند یا حتی غیر قابل درمان هستند، و در صورت همراهی با عملکردهای ضعیف در کنترل عفونت، باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند به راحتی در بین سایر بیماران و محیط پخش شوند. به عبارتی کمبود داروهای موثر، وجود تنها چند آنتی‌بیوتیک جدید در مسیر بالینی و عدم اقدامات موفقیت‌آمیز در پیشگیری از بیماری نیاز به توسعه گزینه‌های درمانی جدید ضدمیکروبی را افزایش داده است [۲،۳،۴].

یکی از روش‌هایی که دانشمندان برای مقابله و حل این مشکل به کار گرفته‌اند، استفاده از اندولیزین فاژ به جای آنتی‌بیوتیک‌ها است. باکتریوفاژها، همه‌گیرترین ارگانیسم‌های روی زمین و ویروس‌هایی هستند که به میزبان باکتریایی برای فعالیت خود نیاز دارند. هر نوع ویروس معمولاً سلول‌های گونه خاصی را می‌تواند آلوده سازد و به صورت اختصاصی عمل می‌کند. اندولیزین‌ها یکی از این آنزیم‌های

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

رمزگذاری‌شده‌ی فاژ هستند که در انتهای چرخه‌ی لیتیک باکتریوفاژ تولید و با تجمع در سیتوپلاسم باکتری میزبان، پیوندهای پپتیدوگلیکان را در دیواره سلول شکسته و باعث ترکیدگی سلول و آزادسازی فاژ به محیط می‌شوند. فعالیت زیستی اندولیزین‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است، زیرا آن‌ها قادرند سلول هدف را چند ثانیه پس از تماس لیز کنند و در نتیجه باعث ایجاد سوراخ‌هایی در دیواره باکتری شوند که منجر به تحلیل و از بین رفتن تعادل اسمزی آن شود. هدف از این پژوهش معرفی اندولیزین به عنوان یک ضد میکروبی جدید جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم به چند دارو است [۴،۳].

فاژ درمانی. فاژ درمانی به عنوان تجویز مستقیم فاژهای لیتیک به بیمار با هدف لیز کردن عامل بیماری‌زا باکتریایی که باعث عفونت بالینی می‌شود، تعریف شده است. در این روش اصطلاحات مونوفاژ و پلی‌فاژ درمانی به ترتیب مشخص می‌کنند که یک فاژ منفرد یا ترکیبی از فاژها در طول فاژ درمانی به‌کار می‌رود. طراحی آزمایش در محیط‌های آزمایشگاه و یا مدل‌های حیوانی، استفاده از یک فاژ و آماده‌سازی فاژ در طول درمان است ولی ممکن است، سودمندی درمان با یک فاژ در حوزه بالینی با ظهور مقاومت باکتری به فاژ مورد استفاده مختل شود. هم‌چنین در این نوع درمان نیاز به تطابق دقیق بین عامل بیماری‌زا و فاژ وجود دارد که این تطابق معمولاً در محیط آزمایشگاهی انجام می‌شود، فعالیت باکتری‌کشی فاژ در شرایط آزمایشگاهی و در بدن موجود زنده ممکن است همیشه یکسان نباشد. برای حل این مشکلات استفاده از چندین فاژ به طور هم‌زمان برای درمان پیشنهاد گردید که این روش را می‌توان برای هدف قرار دادن یک سویه باکتریایی، سویه‌های متعدد از یک گونه باکتری منفرد یا چندین گونه طراحی کرد. استفاده از مخلوط فاژها به طور هم‌زمان به فرآیندهای آماده‌سازی و خالص‌سازی طولانی‌تر و پیچیده‌تری نیاز دارد. اولین گزارش‌ها در مورد اثربخشی فاژ درمانی در یک دوره کوتاه‌مدت، با استقبال گسترده مواجه شد، که در ادامه با معرفی آنتی‌بیوتیک‌های جدید با طیف اثر گسترده‌تر و محدود بودن تحقیقات در زمینه فاژتراپی، استفاده از فاژ برای درمان کم‌رنگ شد، ولی کار فاژ درمانی به طور کامل رها نشد. در مناطقی مانند گرجستان بخشی از اتحاد جماهیر شوروی سابق و لهستان، فاژ درمانی به طور پیوسته رونق گرفت. برخی از بزرگ‌ترین مؤسسات اختصاصی به فاژ درمانی عبارتند از: مؤسسه باکتری و فاژ میکروب‌شناسی و ویروس‌شناسی الیاوا که توسط میکروبیولوژیست گرجی جورج الیاوا در سال ۱۹۲۳ و مؤسسه ایمنی‌شناسی و درمان تجربی لودویک هیرزفلد که در سال ۱۹۵۲ در لهستان تأسیس شد. در فاژ درمانی انسان از فاژها برای درمان بیماری‌هایی از جمله تیفوئید، اسهال خونی، عفونت‌های پوستی و زخم جراحی، سپتی سمی، عفونت‌های دستگاه ادراری و عفونت گوش خارجی استفاده شد [۷]. امروزه، کم‌تر از یک قرن پس از کشف آنتی‌بیوتیک‌ها، مراقبت‌های بهداشتی به دلیل مقاومت ضد میکروبی با تهدید بزرگی مواجه است. این بحران نیازمند توسعه فوری، استانداردسازی و اجرای راه‌کارهای درمانی جدید علیه بیماری‌های عفونی است و فاژ درمانی در سال‌های اخیر بار دیگر کانون توجه قرار گرفته است. گسترش فاژ درمانی با مشخص شدن زیست‌شناسی فاژ، ژنتیک، ایمنی‌شناسی و داروشناسی تسهیل شده است [۸].

مزایا و ضرورت جایگزین کردن فاژدرمانی با درمان‌های سنتی وابسته به آنتی‌بیوتیک. استفاده از فاژ دارای مزایای بسیاری نسبت به آنتی‌بیوتیک در درمان سنتی است، جداسازی فاژ سریع، نسبتاً ساده و ارزان است، مقاومت در برابر فاژ حدود ده برابر کندتر از مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایجاد می‌شود، فاژ تحت شرایط بسیار سخت محیطی عفونی باقی می‌ماند و تا زمانی که تراکم جمعیت باکتری میزبان به طور قابل توجهی کاهش یابد، تمایل به تکثیر دارد، به تجویز با دوز کم‌تر یا محدودتری برای درمان نیاز است، بیش‌تر فاژهای جدا شده تا به امروز در اتصال به میزبان خود ویژگی نسبتاً اختصاصی دارند. این مزیت فاژ خطر آسیب رساندن به میکروبیوتای طبیعی بدن انسان و از بین بردن عوارض جانبی مرتبط با آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی را کاهش داده است. فاژها به طور عمده از پروتئین و DNA تشکیل شده‌اند و با تزریق به بدن بیمار در نهایت تخریب می‌شوند. تخریب ذرات فاژ، برخلاف آنتی‌بیوتیک‌هایی که می‌توانند به کبد آسیب رسانند و منجر به نارسایی در عملکرد اندام‌ها شوند، تولید مولکول‌های سمی نمی‌کند [۹،۱۰]. درمان با آنتی‌بیوتیک آسیب جانبی همراه دارد، در مقابل فاژ درمانی به طور مستقیم باکتری‌های بیماری‌زا را هدف قرار می‌دهد و فاقد عوارض جانبی است. آخرین مزیت فاژ درمانی تطبیق‌پذیری آن است. به دلیل تنوع ژنتیکی، فراوانی و فراگیر بودن آن‌ها منبع نامحدودی از فاژها وجود دارد. علاوه بر این، در فاژ درمانی، فاژ را می‌توان از طریق روش‌های مختلفی به بدن میزبان تزریق کرد، که هر روش با نوع عفونت و ویژگی‌های فیزیولوژی بیماران سازگار است [۸].

تجاری‌سازی محصولات مبتنی بر فاژ. تعدادی از محصولات فاژی برای کنترل برخی از عوامل بیماری‌زا مورد

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

استفاده تجاری قرار گرفته‌اند. این محصولات برای استفاده ایمن شناخته شده‌اند. شرکت‌هایی که در زمینه تولید محصولات فاژ فعال هستند، همراه با محصول تولیدکننده به طور مختصر در جدول ۱ ارایه گردید [۱۰].

جدول ۱. شرکت‌های تولید کننده محصولات مبتنی بر فاژ

نام شرکت تولید کننده	محصول	کاربرد
شرکت داروسازی بیوفاژ (کانادا)	حسگر زیستی PDS	محصول مبتنی بر باکتریوفاژ برای جداسازی و غنی‌سازی با استفاده از باکتری‌ها از نمونه‌های خام بانک فاژ و استفاده در کاربردهای فاژ درمانی و امنیت زیستی به عنوان مثال باسیلوس آنتراسیس.
شرکت چیلجدانگ (کره جنوبی)	بیوتکتور	خوراک دام برای کنترل سالمونلا گالیناروم در پرندگان و سالمونلا پولوروم در طیور.
اینترالایتیکس (ایالت متحده آمریکا)	اکوشیلد و لیست شیلد	کنترل آلودگی اشرشیا کلی O157:H7 و لیستریا مونوسیتوژنز در موادغذایی.
میکرئوس (هلند)	لیستکس P100	نابودی سویه‌های لیستریا مونوسیتوژنز در محصولات غذایی.
فیکو تراپتیکس (انگلستان)	تحویل ژن‌های کوچک پروتئین اسپور محلول در اسید به باکتری‌های هدف با استفاده از ناقل‌های باکتریوفاژ اصلاح شده	SASPject PT1.2: مراحل بالینی اولیه علیه استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین، SASPject PT3.1: مراحل پیش بالینی به منظور استفاده سیستمیک علیه سودوموناس آئروژینوزا و SASPject PT3.X: به منظور استفاده سیستمیک در برابر باکتری‌های گرم منفی مانند اشرشیا کلی.

استفاده از اندولیزین فاژ به عنوان یک محصول فاژ. به طور کلی در استفاده از باکتریوفاژها به عنوان ترکیبات درمانی از آنزیم‌های چرخه‌ی لیتیک فاژ استفاده می‌شود. آن‌ها دارای آنزیم‌های لیتیک مختلفی هستند که می‌توانند خاصیت ضدمیکروبی داشته باشند. اندولیزین اصطلاحی عمومی است که برای توصیف طیف وسیعی از هیدرولازهای پپتیدوگلیکان، در پایان چرخه لیتیک در سلول‌های آلوده به فاژ از ژنوم باکتریوفاژ رمزگذاری و سنتز می‌شوند. این آنزیم‌ها به عنوان لیزوزیم فاژ، لیزین، آنزیم‌های مورالیتیک یا مورئولیتیک نیز شناخته می‌شوند. آنزیم‌های رمزگذاری شده توسط باکتریوفاژها را با توجه به مکانیسم عملکرد به دو کلاس هیدرولازها و لیازها تقسیم می‌کنند، که هر دو منجر به تجزیه پلی‌ساکاریدهای دیواره کربوهیدراتی، به الیگوساکاریدهای محلول می‌شوند. آنزیم‌های هیدرولاز که توانایی تخریب پوشش پپتیدوگلیکان باکتری را دارند؛ اندوپپتیداز شامل لیزوستافین، آمیداز و گلیکوزیداز هم‌چون گلوکوزآمینیداز و مورامیداز مانند لیزوزیم نامیده می‌شوند که از اجزای ضروری چرخه زندگی فاژ لیتیک و جایگزین امیدوارکننده برای آنتی‌بیوتیک‌ها هستند [۸،۲،۱۱].

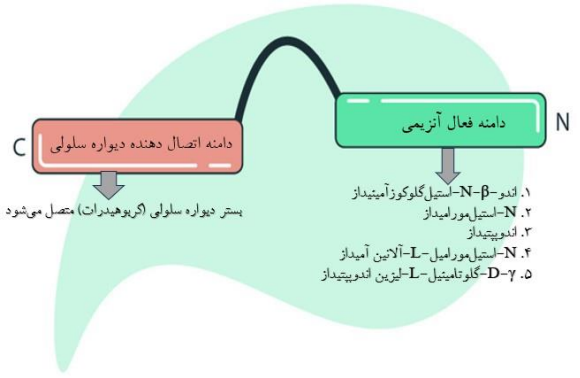
ساختار اندولیزین. ساختار اندولیزین‌ها با منشا باکتری میزبان آن‌ها تعیین می‌شود و اکثر اندولیزین‌ها با وزن مولکولی ۱۵ تا ۴۰ کیلودالتون به دو دسته طبقه‌بندی می‌شوند. لیزین موثر بر یک میزبان گرم مثبت به طور کلی با یک ساختار مدولار (چند دامنه) مشخص می‌شوند که دارای دامنه فعال آنزیمی در سمتN – ترمینال و دامنه اتصال‌دهنده دیواره سلولی در سمت-C ترمینال است. دامنه فعال آنزیم (EAD)، آنزیم‌های واقعی را نشان می‌دهد و تجزیه دیواره سلولی را کاتالیز می‌کند. این دو دامنه توسط یک ناحیه اتصال‌دهنده کوتاه و انعطاف‌پذیر به یک‌دیگر مرتبط می‌شوند (شکل ۱). بیش‌تر دامنه‌های اتصال دیوار سلولی (CBD)، با شناسایی مولکول‌های لیگاند مرتبط با دیواره سلولی خاص، آنزیم‌ها را به سمت مکان فعال خود هدایت می‌کنند. در مقابل اندولیزین‌های موثر بر یک میزبان گرم منفی تک دامنه هستند و از یک دامنه فعال آنزیمی در سمت N– ترمینال تشکیل شده‌اند. مطالعات اخیر وجود اندولیزین‌های فاژ موثر بر باکتری‌های گرم منفی با پیکربندی کروی را نشان داد که دارای یک یا دو CBD در N– ترمینال هستند در حالی‌که EADدر C– ترمینال قرار گرفته است، که یک جهت‌گیری معکوس از ساختار رایج اندولیزین‌ها است. مطابق با شکل۲، باتوجه به مکان برش EAD شش فعالیت آنزیمی مرتبط با پروتئین‌های لیتیک فاژ وجود دارد که در سه دسته قرار گرفته است: دسته اول گلیکوزیدازها شامل فعالیتN – استیل –β– D– گلوکوزآمینیدازها و N– استیل –D–β– مورامیداز که پیوند (۱–۴) β در بخش قند دیواره سلولی باکتری را هیدرولیز می‌کند. دسته دوم آمیدازها شامل فعالیتN – استیل مورامیل –L– آلانین آمیداز که پیوند آمیدی در بخش قند دیواره

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

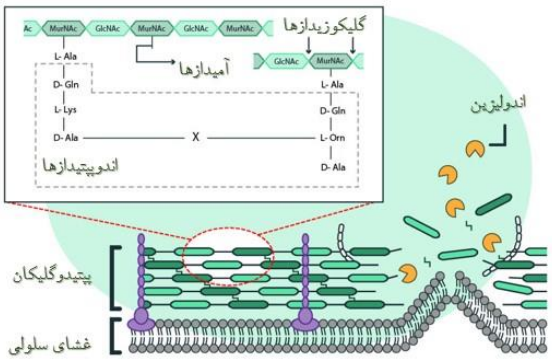
Archive of SID.ir

سلولی باکتری را هیدرولیز می‌کند. دسته سوم اندوپپتیداز که پیوند بین دو اسید آمینه را در بدنه پپتید پپتیدوگلیکان هیدرولیز می‌کنند، فعالیت‌هایی که بر پیوندهای بین پل بین پپتیدی تاثیر دارد و آن‌هایی که در پیوند بدنه و پل بین پپتیدی شکاف ایجاد می‌کنند. دامنه اتصالی (CBD) از مفیدترین خواص اندولیزین است، زیرا این امکان را فراهم می‌کند که عوامل بیماری‌زا، مستقیماً بدون تاثیر بر فلور طبیعی هدف قرار گیرد [۱۲].

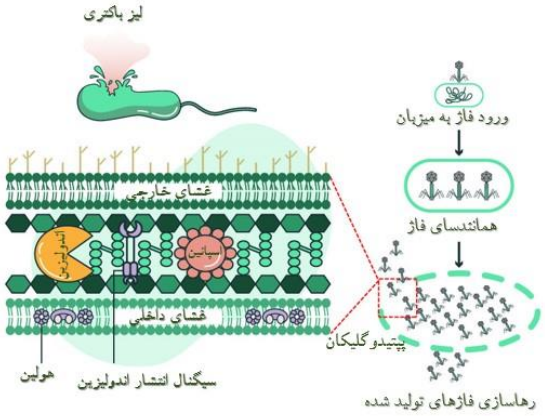


شکل ۱. ساختار اصلی لیزین فاژ، دامنه فعال آنزیمی (کاتالیزوری) در سمت N-ترمینال که یکی از پنج پیوند اصلی پپتیدوگلیکان را می‌شکند و دامنه اتصال سلولی در سمت انتهایی C-ترمینال، که به ترکیبات کربوهیدرات در دیواره سلولی متصل می‌شود. این دو دامنه توسط یک اتصال دهنده به یکدیگر متصل می‌شوند[۴۳].

ساز و کار عملکرد اندولیزین. مطابق با شکل ۳ اندولیزین‌ها به طور یکنواخت با هدف قرار دادن مستقیم پیوندهای پپتیدی در لایه پپتیدوگلیکان دیواره سلول باکتریایی معرفی می‌شوند. در باکتری‌های گرم مثبت دیواره سلولی باکتری حاوی پپتیدوگلیکان به عنوان جز اصلی و متشکل از تکرار دی ساکارید زنجیره‌های N- استیل مورامیک اسید و –Nاستیل گلوکوزآمین است، که با پیوندهای گلیکوزیدی β (1-4) مرتبط هستند. نتیجه این فعالیت تخریب لایه سخت مورئین و آزادسازی ویروس‌های تازه تکثیر شده از طریق لیز دیواره سلولی باکتری است. در باکتری‌های گرم منفی به دلیل وجود غشای خارجی به طور کلی، یک مدل سه مرحله‌ای از نابودی میزبان باکتریایی وجود دارد. این مدل از سه پروتئین به نام‌های اندولیزین، هولین و اسپانین تشکیل شده است. این پروتئین‌ها به ترتیب روی پپتیدوگلیکان، غشای داخلی و غشای خارجی باکتری اثر گذار است. در حالت متعارف، در یک دوره زمانی برنامه‌ریزی شده از نظر ژنتیکی و با استفاده از یک سیگنال خاص (غلظت بحرانی موثر در هولین و دیپلاریزاسیون جزئی غشا)، مونومرهای هولین در فاصله زمانی کمی به شکل الیگومرها تجمع یافته و ضایعات غشایی یا حفره‌های بزرگی را ایجاد می‌کنند، که از طریق آن اندولایزین‌ها از غشا عبور کرده و باعث نابودی سلول می‌شود. در حالت دوم، نابودی زمانی شروع می‌شود که پین‌هولین بتواند با ایجاد کانال‌های کوچک به کمک دیپلاریزاسیون غشا، اندولیزین ترشح شده را فعال و آماده حمله به پپتیدوگلیکان کند. منطبق با یافته‌های جدید، وجود اسپانین، یکی دیگر از پروتئین‌های نابودی در تخریب غشای خارجی سلول باکتری لازم است [۱۲،۱۳].



شکل۲. نمایش ساختار دیواره سلولی باکتریایی که محل‌های برش اندولیزین در هر قسمت از دیواره سلولی پپتیدوگلیکان بر اساس فعالیت آن مشخص شده است[۴۴، ۴۵].



شکل ۳. مکانیسم عملکرد اندولیزین فاژ، اندولیزین به کمک پروتئین‌های هولین و اسپانین پپتیدوگلیکان، غشای داخلی و خارجی باکتری‌های گرم منفی را تخریب کرده و باعث نابودی سلول و آزاد شدن فاژهای جدید تکثیر یافته می‌شوند[۱۲].

اندولیزین‌های موثر بر باکتری‌های گرم منفی. اندولیزین‌ها تا حد زیادی در برابر باکتری‌های گرم منفی بی‌اثر هستند، مانع اصلی در عدم توانایی این پروتئین‌ها در عبور از غشای خارجی باکتری است. برای حل این مشکل، چندین روش از جمله استفاده از عوامل تجزیه‌کننده غشا و همجوشی ابتدا و انتهای حوزه‌های پروتئینی لیزین‌ها با غشا، در عبور از غشا

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

خارجی گزارش شده است. یک معماری غیرمعمول برای اندولایزین‌های موثر بر باکتری گرم منفی، استفاده از اندولایزین‌های مدولار شامل دامنه فعال آنزیمی در حوزه انتهایی C و دامنه اتصالی در حوزه انتهایی N است، زیرا اکثر آن‌ها پروتئین‌های کروی تک دامنه هستند. سایر عوامل نفوذپذیری غشای خارجی که در ترکیب با اندولایزین فاژ موثر هستند، شامل افزودن هم‌زمان عوامل بی‌ثبات‌کننده غشا مانند نمک اتیلن دی آمین ترا استیک اسید دی‌سدیم (EDTA)یا پپتیدهای کاتیونی مانند پلی–ال– آرژنین است که می‌تواند باعث لیز سلول‌های باکتری شود. علاوه بر این، ترکیب اندولیزین‌ها با فشار هیدرواستاتیک بالا می‌تواند به طور موقت غشای خارجی را نفوذپذیر کرده و از دسترسی آنزیم‌ها به بستر آن‌ها پشتیبانی کند [۱۵].

مزایای استفاده از اندولیزین نسبت به آنتی‌بیوتیک. استفاده از اندولیزین‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها دارای مزایای بسیاری است. یکی از مهم‌ترین مزیت‌های آن عملکرد سریع است، به طوری‌که وقتی یک بیمار دچار عفونت تحت درمان با آنتی‌بیوتیک قرار می‌گیرد، چند ساعت طول می‌کشد تا ارگانیسم‌ها لیز گردد، در حالی‌که درمان با اندولیزین ظرف چند دقیقه باکتری‌ها را حذف می‌کند. در نتیجه با درمان اندولیزین شانس زنده ماندن بسیار بیش‌تر از آنتی‌بیوتیک است. مزایای دیگر شامل اثر در برابر سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و بیوفیلم‌ها، خطر بسیار کم برای ایجاد مقاومت، و طیف وسیع‌تر میزبان (شامل چندین گونه از یک جنس) است، حفظ میکروفلور طبیعی، موثر بر باکتری‌های مقاوم به چند دارو، هم‌افزایی با سایر عوامل ضدباکتری و موثر در تخریب بیوفیلم‌ها از مهم‌ترین مزایای استفاده از اندولیزین‌ها در رابطه با کاربرد ضد باکتریایی آن است. اندولایزین‌ها در صنایع غذایی نیز مزیت‌های دیگری نسبت به استفاده از ترکیبات ضد میکروبی که از گذشته به طور سنتی استفاده می‌شود مانند اسیدهای آلی ارائه می‌دهند، زیرا آن‌ها باعث تغییر در طعم، قوام یا بافت غذاها نمی‌شوند. علاوه بر این، ساختار مدولار آن‌ها امکان مهندسی آسان و کارآمد را فراهم کرده است. این مزایا در سال‌های اخیر باعث موفقیت اندولایزین‌ها و مشتقات مهندسی آن‌ها در مراحل کارآزمایی پیش بالینی و بالینی شده و آن‌ها را در رده امیدوارکننده‌ترین ترکیبات ضد میکروبی، جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های معمولی قرار داده است [۱۲،۱۵].

مزایای استفاده از اندولایزین نسبت به فاژ کامل. استفاده از اندولایزین‌ها دارای مزایایی نسبت به فاژهای کامل نیز است. برخلاف باکتریوفاژها، اندولیزین‌ها لزوماً به کشت باکتریایی که به طور فعال در حال رشد است نیاز ندارند. مزیت اصلی استفاده از اندولایزین‌ها در مقابل فاژ کامل، حذف ماده ژنتیکی فاژ از درمان است، بنابراین احتمال وقوع هرگونه انتقال ژنتیکی که قبلاً با فاژ نشان داده شده بود، از بین رفته است. این امر ممکن است به پذیرش نظارتی روش‌های درمانی جدید کمک کند. علاوه بر این، اندولایزین‌ها بی‌خطر محسوب می‌شوند. بعید است که مقاومت ایجاد کنند، زیرا نقاط هدف اندولیزین بر دیواره باکتری بسیار حفاظت شده است و به تعداد محدود مکانیسم‌های مقاومت احتمالی در برابر عوامل موثر بر دیواره سلول وجود دارد. هم‌چنین امکان طراحی مدولار و استفاده از مهندسی ترکیبات ضدمیکروبی وجود دارد [۱۷].

مقاومت در برابر اندولیزین‌ها. اندولیزین‌ها به عنوان یک عامل درمانی مقاوم در نظر گرفته می‌شوند، زیرا در مقاومت باکتریایی، ویژگی خاص تاثیرگذاری آنزیم برای گونه یا جنس باکتریایی، مزایای متعددی را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های وسیع فراهم کرده است. هم‌چنین تکامل فاژها هم‌راستا با باکتری میزبان مزایای بسیاری دارد، مانند توانایی اتصال و فعالیت حفظ شده و احتمال نادر جهش در مکان‌های اتصال که مقاومت در برابر اندولیزین‌ها را به یک رویداد استثنایی تبدیل کرده است. هم‌چنین با وجود مکانیسم‌های اصلی مقاومت در برابر ترکیبات ضدمیکروبی در داخل سلول، استفاده خارج سلولی از اندولیزین‌ها و قرار گرفتن پپتیدوگلیکان در سمت خارج سلول، احتمال گسترش مقاومت را محدود کرده است. در نتیجه جهت تقویت فعالیت درمانی و کاهش احتمال وجود مقاومت سیستماتیک در باکتری‌ها ممکن است از اندولایزین‌های متعدد در ترکیب با سایر ضد میکروب‌ها مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، باکتریوسین‌ها یا اسیدهای آلی استفاده شود [۱۸].

فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک اندولیزین. در مورد اثربخشی اندولایزین‌ها علیه باکتری‌ها تحقیقات زیادی در حال انجام است، فارماکوکینتیک را می‌توان به عنوان آن‌چه بدن روی یک داروی خاص انجام می‌دهد، توصیف کرد. در حالی که فارماکودینامیک در مورد تأثیرات دارو بر بدن بحث می‌کند. همه این عوامل جنبه‌های مهمی برای تایید استفاده درمانی یک دارو هستند. در یک مطالعه در سال ۲۰۱۸ مقدار حساسیت‌زایی دو اندولایزین که استرپتوکوک پنومونیه را هدف قرار می‌دهند، بررسی گردید و هیچ سطح قابل توجهی از سمیت نشان داده نشد [۱۳].

ایمنی‌زایی اندولیزین. نتایج حاصل از ارزیابی‌های ایمنی‌زایی تا به امروز ایده استفاده از اندولایزین‌ها را به عنوان یک درمان بالقوه تایید می‌کند اما تحقیقات بیش‌تری در این

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

زمینه باید انجام شود تا اطمینان حاصل گردد که کلاس‌های مختلف لایزین خطر قابل توجهی برای میزبان ایجاد نمی‌کنند. از آن‌جایی که لایزین‌ها سلول‌های پستانداران را آلوده نمی‌کنند، نباید خطرات سمی بالقوه برای انسان و حیوانات ایجاد کنند. این نظریه با درمان موفقیت‌آمیز بالینی عفونت‌های سیستمیک با لایزین در مدل‌های موش تایید گردید و هیچ نشانه‌ای از سمیت مشاهده نشد. همچنین مشخص شد که لایزین درمانی موضعی، سیستمیک یا داخل وریدی هیچ‌گونه عوارض جانبی مضر، غیرطبیعی تحریک‌کننده در آزمایشات پیش بالینی در داخل بدن ندارد. همچنین اندولایزین‌ها با سیستم ایمنی میزبان تعامل برقرار می‌کنند و باعث القای آنتی‌بادی‌هایی می‌شوند که معمولاً از یک داروی پروتئینی انتظار می‌رود، اما مطالعات تا به امروز تأثیر منفی این سری از ترکیبات را بر افراد تحت درمان نشان ندادند. همچنین حضور این آنتی‌بادی‌ها بر مقدار اثربخشی درمان نیز تاثیری نداشته است. یکی از مزایای واضحی که اندولایزین‌ها نسبت به همتایان سنتی خود دارند، اختصاصی بودن آن‌ها نسبت به میزبان است. عملکرد هدفمند اندولایزین‌ها باعث می‌شود که یک پاتوژن منفرد در بین گروهی از باکتری‌ها انتخاب شود و از کشته شدن بیهوده سایر فلورها جلوگیری گردد [۱۳].

لایزین در صورت استفاده از طریق مخاط یا سیستماتیک، قادر به تحریک پاسخ ایمنی (آنتی‌بادی‌ها) است. این پاسخ می‌تواند فعالیت لایزین را به‌طور بالقوه کاهش دهد. در آزمایشات برون‌تنی و درون‌تنی هنگامی که مقدار آنتی‌بادی در سرم خرگوش ایمن در برابر لایزین پنوموکوک Cpl-1 افزایش یافت، مشخص گردید که فعالیت کشندگی در شرایط برون‌تنی کند است، ولی مسدود نیست. نتایج مشابهی با لایزین‌های باسیلوس آنتراسیس و استرپتوکوک پیوژنز نیز مشاهده شد. بررسی نتایج آزمایش درون‌تنی نشان داد که در پنج مورد از شش مورد، موش‌هایی که سه دز وریدی Cpl-1 دریافت کرده‌اند، مقدار آنتی‌بادی IgG علیه آنزیم بالا است ولی بر مقدار فعالیت اثر مهاری متوسط دارند. در یک مطالعه روی لایزین‌های لیستریا، Ply118 و Ply500، نشان داده شد، تمایل حوزه اتصالی C-terminal به هدف آن در دیواره سلول در محدوده نانومولار است، که شبیه به میل اتصالی مولکول IgG برای آنتی‌ژن می‌باشد. اگرچه لایزین‌ها می‌توانند یک پاسخ ایمنی ایجاد کنند، اما این پاسخ فعالیت آن‌ها را خنثی نمی‌کند و یا مانع استفاده از آن‌ها به عنوان ضد باکتری در درمان عفونت‌های سیستمیک نمی‌گردد [۱۹].

کاربرد اندولیزین‌ها. از اندولیزین‌ها در زمینه‌های مختلف از جمله در صنایع غذایی، کشاورزی، صنعت و پزشکی استفاده می‌شود. در جدول ۲ تعدادی از اندولیزین‌های شناسایی شده علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی آمده است.

جدول ۲. خصوصیات تعدادی از اندولیزین‌های شناسایی شده

نوع باکتری میزبان	نام فاژ	میزبان فاژ	نام پروتئین فاژ	نوع کاتالیز	مرجع
گرم مثبت	فاژ C1	استرپتوکوکوس پیوژنز	PlyC	آمیداز	[۴۵، ۴۶]
گرم مثبت	فاژ Dp-1	استرپتوکوکوس پنومونیه	Pa1	آمیداز	[۴۷، ۴۸]
گرم مثبت	vB_SauS_φIPLA88	استافیلوکوکوس اورئوس	HydH5	پپتیداز، لیزوزیم	[۵۰]
گرم مثبت	فاژ φA500	لیستریا مونوسیتوژنز	Ply500	ال-آلانوئیل-دی-گلوتامات پپتیداز	[۵۰، ۵۱]
گرم منفی	فاژ EL	سودوموناس آئروژینوزا	EL188	لیتیک ترنس‌گلیکوزیلاز	[۵۳]
گرم منفی	فاژ KP32	کلبسیلا پنومونیه	KP32gp15	آمیداز	[۵۴]
گرم منفی	فاژ T5	اشرشیاکلی	LysT5	پپتیداز	[۵۵]
گرم منفی	فاژ P2	اشرشیاکلی	P2gp09	لیتیک ترنس‌گلیکوزیلاز	[۵۴]

Archive of SID.ir

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

اندولیزین در صنایع غذایی. نیاز به روش‌های جدید جهت پیشگیری بهتر از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی وجود دارد. مشکلات در نابودی عوامل بیماری‌زا در سطح تولید، ماندگاری آن‌ها در محیط و پیامدهای جدی آن‌ها برای سلامتی انسان و حیوان مشخص است. به عنوان مثال، لیستریا مونوسیتوژنز برای زنده ماندن در شرایط مختلف محیطی از جمله pH کم (زیر ۶)، نمک زیاد (۱۰-۲۰) درصد و دمای پایین (۱ درجه سانتی‌گراد) به خوبی سازگار است. علاوه بر این، میزان مرگ و میر بالایی در ارتباط با بیماری‌های ناشی از غذا با این باکتری گزارش شده است. هم‌چنین نگرانی ویژه برای غذاهای آماده وجود دارد. بنابراین، به منظور افزایش ایمنی و ماندگاری غذاهای آماده، تولیدکنندگان به اثر ضد میکروبی مواد نگهدارنده شیمیایی مانند لاکتات، نیترات و پروپیونات و سایر مواد از جمله داروهای ضد میکروبی مانند اسیدهای آلی، عصاره‌های گیاهی، باکتریوسین‌ها، باکتریوفاژها و آنزیم‌های لیتیک آن‌ها نیاز دارند. ولی با تقاضای مصرف‌کننده برای غذاهایی که دارای حداقل فراوری و حاوی مواد طبیعی و بی‌خطر هستند، جست‌وجو برای شناسایی مواد نگهدارنده که بی‌خطر در نظر گرفته شود، افزایش یافته است. ثابت شده است که اندولایزین‌ها اثر ضدمیکروبی موثری برای مهار رشد عوامل بیماری‌زا ناشی از غذا در سیستم‌های غذایی متعدد دارند [۲۰].

تشخیص سریع عوامل بیماری‌زا در غذا. آلودگی ناخواسته غذا توسط باکتری‌های بیماری‌زا در هر نقطه از زنجیره تولید مواد غذایی می‌تواند رخ دهد. بنابراین چندین فناوری تشخیص برای عوامل بیماری‌زای قابل انتقال از غذا معرفی شده است که شامل: روش تشخیص بیوشیمیایی متداول با استفاده از محیط انتخابی خاص، تشخیص با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مبتنی بر DNA، روش تشخیص ایمنی با استفاده از آنتی‌بادی و اخیراً فناوری مبتنی بر اندولیزین فاژ توسعه‌یافته است. حوزه اتصال دیواره سلولی اندولیزین (CBD) برای اتصال به دیواره سلول میزبان خاص در گونه‌ها یا حتی سطح سویه است. این CBDها دارای حساسیت بالا، هزینه تولید پایین از طریق بیان ژن مولکولی و زمان تشخیص بسیار کوتاه هستند. بنابراین، این روش جدید تشخیص با استفاده از CBD امکان شناسایی و نظارت بر عوامل بیماری‌زای خاص در غذاها را در زمان کوتاه فراهم کرده است. هم‌چنین CBD دارای برچسب فلورسنس ممکن است برای تشخیص سریع و حتی اندازه‌گیری غلظت مواد غذایی خاص استفاده شود. علاوه بر این تولید انبوه و ارزان آن ممکن است با استفاده از سیستم بیان و تخلیص در اشرشیاکلی امکان‌پذیر باشد. در نتیجه اندولیزین مشتق شده از فاژ و CBD آن نامزدهای امیدوارکننده کنترل و تشخیص سریع باکتری‌های بیماری‌زا هستند [۲۱].

اندولیزین‌ها در زیست فناوری. به دلیل عملکرد اختصاصی اندولایزین‌ها، از آن‌ها در کنترل زیستی بدون تاثیر بر فلور طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. واضح‌ترین روش استفاده در کنترل زیستی عوامل بیماری‌زا در غذا و خوراک، افزودن مستقیم آنزیم تصفیه شده به غذا یا محصول خام است. یک گزینه جایگزین ارزان و مناسب، تولید و ترشح اندولایزین‌های خاص توسط باکتری‌های تخمیرکننده لاکتوکوکوس لاکتیس است که در این مورد، دیواره سلولی باکتری میزبان نباید نسبت به اندولیزین حساس باشد. در مقابل، هدف برخی از برنامه‌ها ایجاد خود تخریبی است که با واسطه سلول‌های حامل ژن‌های اندولیزین انجام می‌شود که قادر به تخریب خود هستند [۲۲].

اندولیزین‌ها می‌توانند به عنوان لنگر برای قرار گرفتن پروتئین‌های دیگر بر روی سطح باکتری‌ها استفاده شوند. به عنوان مثال، دامنه‌های اتصال سلولی در اندولیزین می‌توانند در کنار پروتئین‌های دیگر مانند آنتی‌ژن‌ها در سطح باکتری قرار بگیرند، به‌طوری‌که ساختار و فعالیت را نیز حفظ کنند. از باکتری‌های اسید لاکتیک برای سیستم‌های نمایش در سطح بر اساس اندولایزین فاژ استفاده می‌شود. ریبلز و همکاران نشان دادند که افزودن آنتی‌ژن برون‌زای E7 دارای برچسب هیستیدین (جهت خالص‌سازی پروتئین) از ویروس پاپیلومای انسانی نوع ۱۶، روی سطح باکتری اسید لاکتیک به کمک حوزه اتصال به دیواره سلولی اندولیزین فاژ لاکتوباسیلوس کاسی A2 به عنوان لنگر، از موش‌ها در برابر HPV-16 محافظت می‌کند. در این روش امکان تثبیت بسیار بالا آنتی‌ژن E7 روی سطوح باکتری اسید لاکتیک وجود داشت. بنابراین این نوع سیستم، برای هدایت بیش‌تر پروتئین‌های درمانی به سطح باکتری‌ها روشی ایمن و کم‌هزینه است [۲۲،۲۳].

اندولیزین در کشاورزی

یک کاربرد نه چندان شناخته شده، ولی جالب تولید گیاهان تراریخته است، که ژن‌های اندولایزین فاژ را بیان می‌کنند. این گیاهان با هدف دستیابی به مقاومت در برابر باکتری‌های بیماری‌زا طراحی شده‌اند. نمونه اولیه آن سیب‌زمینی تراریخته که لیزوزیم T4 را بیان می‌کند و قادر به حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از عامل بیماری‌زا است. هم‌چنین مشخص شده است که خیساندن گلابی نارس در لیزهای سلول‌های اشرشیاکلی بیان‌کننده اندولیزین فاژ FEa1hباعث تاخیر و یا جلوگیری از تشکیل پوکه و بافت

Archive of SID.ir

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

مردگی ناشی از اروینیا کاروتوورا شد، که مکانیسم عملکرد مشابه لیزوزیم T4 است [۲۴،۲۵].

اندولایزین‌ها به عنوان عوامل درمانی. معرفی اندولیزین‌های جدید به عنوان یک عوامل درمانی و جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در دوره افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک در حال افزایش و پیشرفت هستند تا به امروز اندولیزین‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است، که در برابر تعدادی از عوامل بیماری‌زای کشنده از جمله استرپتوکوکوس پنومونیه، استرپتوکوک آگالاکتیه، مایکوباکتریوم، سودوموناس آئروژینوزا و اسینتوباکتربومانی موثر است. استفاده از هیدرولازهای پپتیدوگلیکان رمزگذاری شده باکتریوفاژ به عنوان عامل ضد میکروبی جدید با کاربردهای بالینی رویکرد امیدوارکننده‌ای برای درمان بیماری‌های عفونی است. پتانسیل آنزیم‌های لیتیک فاژ برای اولین بار در سال ۲۰۰۱ برای جلوگیری و درمان کلونیزاسیون باکتری عامل عفونت دستگاه تنفسی فوقانی در موش‌ها توسط استرپتوکوک‌های گروه A آزمایش شد. پس از ۲ ساعت از مصرف لیزین PlyC در حیوانات، هیچ باکتری مشاهده نشد. متعاقب این کار، مطالعات متعددی اثر آنزیم‌های لیتیک فاژ را برای کنترل عفونت‌های مختلف پنوموکوکی مانند ذات‌الریه نشان دادند. همچنین نتایج قابل توجهی در درمان عفونت‌های باسیلوس آنتراسیس که یک عامل بیماری‌زا و بسیار سمی برای انسان است، به‌دست آمد. به طور کلی، پروتئین‌های لیتیک رمزگذاری شده باکتریوفاژ به عنوان درمانی در برابر عوامل بیماری‌زای مقاوم به چند دارو مفید و موثر به نظر می‌رسند. این آنزیم‌ها همچنین می‌توانند به عنوان ضدعفونی‌کننده وسایل پزشکی برای جلوگیری از عفونت‌های بعد از جراحی استفاده شوند. اما قبل از گسترش استفاده از آن‌ها در درمان عفونت انسانی، لازم است آزمایشات بالینی به منظور بررسی اثرات این پروتئین‌ها روی سیستم‌های انسانی از جمله تعیین پاسخ ایمنی به این عوامل پروتئینی انجام شود [۲۶،۲۷].

اندولیزین در صنعت. اندولیزین در تولید مواد زیستی، برای ایجاد اختلال در سلول‌ها و تسهیل پردازش در پایین دست استفاده می‌گردد. این روش از نظر اقتصادی امکان‌پذیرتر و کنترل آن آسان‌تر از روش‌های سنتی اختلال سلول است. به‌علاوه، از اندولایزین‌های فاژ برای استخراج DNA، RNA و پروتئین از باکتری‌ها استفاده شده است. دو کاربرد اخیر آنزیم‌های لیتیک، کنترل رشد باکتری‌ها در تخمیر زیستی و در آزمایش‌های تشخیصی است. آلودگی کشت‌های تخمیر توسط باکتری لاکتیک اسید باعث کاهش بازدهی اتانول و ضرر اقتصادی در تولید سوخت زیستی می‌شود. در مطالعه‌ای نشان داده شد که اندولیزین فاژ LambdaSa2 و چندین اندولیزین فاژ لاکتوباسیلوس قادر به لیز کردن سویه‌های لاکتوباسیل، استافیلوکوک یا استرپتوکوک در شرایط تخمیر هستند [۲۷].

اندولیزین و سیستم تحویل دارو با فناوری نانو. با توجه به افزایش مکانیسم‌های مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های تجاری متعدد، رژیم‌های درمانی سنتی نیاز به بازنگری و تبدیل به استراتژی‌های جدید دارند. نانوذرات اکنون به‌طور گسترده برای انتقال عوامل درمانی مانند داروهای ضد سرطان به سلول‌های یوکاریوتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین امکان هدف‌گیری موثر در سلول‌های باکتریایی را نیز فراهم کرده است. از آن‌جا که می‌توان سطح نانوپپتیدهای مختلف را اصلاح کرد تا از طریق گروه‌های مختلف عملکردی با مولکول‌های زیستی ترکیب شود، می‌توان از این ذرات به عنوان حامل کارآمد استفاده کرد. امکان دست‌یابی به سطوح مهندسی یا فضای داخلی نانوذرات با فلوئورسازه‌ها به منظور دستیابی در تشخیص کمی عامل بیماری وجود دارد. با استفاده از این ویژگی‌ها به صورت ترکیبی، نانوذرات می‌توانند هم‌زمان تشخیص و درمان عفونت‌های باکتریایی را بهبود بخشند. با هدف افزایش کارایی درمانی، می‌توان از یک یا چند ویژگی ریخت‌شناسی و ضدباکتریایی نانوذرات که شامل استفاده از آن‌ها به عنوان عوامل نفوذپذیر غشا و عوامل متمرکزکننده دارو برای انتقال موثر ضدمیکروبی به سلول‌های باکتریایی استفاده کرد، که امکان ایجاد اثرات چند ظرفیتی را از طریق بسته‌بندی مواد ضد میکروبی در سطح نانوذرات فراهم می‌کند. برخی از نانوذرات، مانند آن‌هایی که از مس، نقره و سلنیوم تشکیل شده‌اند، دارای خواص ضد میکروبی ذاتی هستند که با استفاده از اثرات هم‌افزایی، می‌توان با ترکیب یا پوشش دادن آن‌ها با مواد خاص ضدباکتری، این ویژگی‌ها را افزایش داد و یا بهبود بخشید. به عنوان مثال چندین گزارش افزایش تاثیر ضدمیکروبی آنزیم‌های لیتیک در ترکیب با نانوذرات نقره علیه عوامل بیماری‌زای مختلف باکتریایی توصیف کرده‌اند. در تحقیقی به منظور جلوگیری از عفونت‌های باکتریایی مبتنی بر تماس در کاربردهای سطحی نانومواد از آنزیم لیتیک فاژ Ply500مبتنی بر فاژ استفاده شد. برای فرآیندهای زیست فناوری، اندولایزین ها باید با ماندگاری و فعالیت طولانی روی سطوح بی‌اثر شوند. در مطالعه ذکر شده، بی‌حرکتی Ply500بر روی ذرات سیلیس در مقیاس نانو نیز انجام شد، که Ply500-SNP نام گرفته است و مورد تأیید سازمان غذا و دارو ایالت متحده است. پایداری این ترکیب در هر دو درجه حرارت ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس اثرات ضد میکروبی آن را بهبود بخشید و یک گام به جلو هنگام ترکیب Ply500-SNP با

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

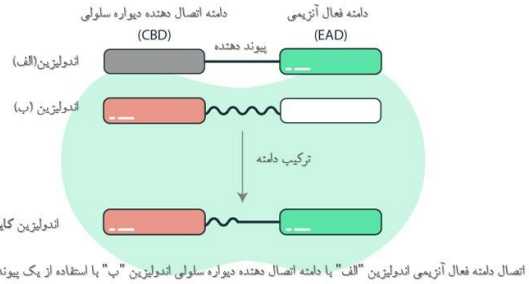
Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

یک فیلم پلی‌هیدروکسی اتیل متاکریلات توانست سلول‌های لیستریا را در دمای ۴ درجه سلسیوس به طور کامل از بین ببرد، بنابراین به عنوان پوشش ضدباکتری در پردازش یا ذخیره‌سازی مواد غذایی در سرما کاربرد دارد. به طور کلی پیوندهایی که توسط اندولایزین‌ها مورد هدف قرار گرفته و هیدرولیز می‌شوند فقط در دیواره سلول‌های باکتری وجود دارند. اگرچه اندولایزین‌ها برای انجام عملکرد صحیح از داخل برروی سلول‌های آلوده طراحی شده‌اند، اما هنگامی که از خارج بر روی سلول‌های باکتری اعمال می‌شوند به همان اندازه کارایی دارند و از آن‌ها می‌توان در کاربردهای مختلف زیستی، درمانی و صنعتی استفاده کرد [۲۸،۲۹].

مهندسی اندولیزین‌ها، آنزیم‌های کایمر و لیزین‌های نسل بعد. اندولیزین‌ها و مشتقات آن‌ها در سال‌های اخیر به عنوان یک کلاس جدید از ترکیبات ضدمیکروبی معرفی و هم‌اکنون وارد مراحل کارآزمایی بالینی شده‌اند. عملکرد سریع و ماهیت پروتئینی این ترکیبات آن‌ها را از آنتی‌بیوتیک‌ها متمایز کرده است. اگرچه اندولیزین‌ها نتایج امیدوارکننده‌ای در مورد اثرات ضدباکتریایی نشان دادند، سطوح بیان ضعیف و یا نامحلول بودن آن، استفاده از اندولیزین‌های فاژی بسیار فعال را محدود کرده است. علاوه بر این، شناسایی یک اندولیزین جدید نسبتاً دشوار است، زیرا اکثر اندولیزین‌های هدفدار دارای ترکیبات دامنه مشابهی هستند و حفاظت بالایی در توالی اسید آمینه را نشان می‌دهند. برای غلبه بر این مشکلات، برخی از گروه‌های تحقیقاتی توالی‌های کوتاه یا کایمر لیزین‌ها را طراحی کرده‌اند. ساختار مدولار در حوزه‌های عملکردی اندولیزین گرم مثبت به ما این اجازه را می‌دهد تا برای تولید اندولیزین‌های کایمر، این نوع آنزیم‌ها از طریق تعویض دامنه با خواص برتر مهندسی شود (شکل۴). تلاش‌های گسترده‌ای از طریق مهندسی پروتئین، به منظور اصلاح حلالیت و سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی این آنزیم‌ها انجام گرفته است، که باعث افزایش طیف فعالیت آنزیم‌ها برروی باکتری‌های گرم منفی مقاوم در برابر دارو شد. هم‌چنین فعالیت عوامل بیماری‌زا گرم مثبت را نیز بهبود بخشید [۳۱]. مهندسی اندولیزین مانند دامنه نوترکیب با طراحی یا تعویض تصادفی دامنه مورد آزمایش قرار گرفته است، به عنوان مثال، یانگ و همکاران غربالگری تصادفی از یک کتابخانه دامنه از اندولیزین‌های نوترکیب را درلیز کنترل شده اشرشیاکلی گزارش کردند [۳۲].

یکی از نمونه‌های اصلی آنزیم مهندسی شده با افزایش فعالیت کشندگی، Ply187AN-KSH3b است، که تلفیقی از دامنه اندوپپتیداز استافیلوکوک لیزین (Ply187AN) Ply187 به همراه دامنه اتصال SH3b یک اندولیزین دیگر با نام LysK، است که ترکیب این دو فعالیت کشندگی ده برابر بالاتر از فعالیت هر دو به تنهایی نشان داد [۳۳]. هم‌چنین تغییرات در ویژگی از جمله گسترش طیف لیتیک یک اندولیزین می‌تواند با تبادل یا افزودن یک دامنه اتصال سلولی در بین گونه‌ها یا حتی ویژگی جنس اندولیزین بومی حاصل شود. گزارش دیگری، طراحی و ساخت اندولیزین مهندسی شده استافیلوکوک را توصیف می‌کند، که سه نوع فعالیت کاتالیزوری منحصر به فرد را در هم‌جوشی پروتئین‌های منفرد ترکیب کرده است، در نتیجه از ایجاد سویه‌های مقاوم جلوگیری گردید. علاوه بر مثال‌های ذکر شده، مهندسی مولکولی اندولایزین‌ها منجر به ایجاد سازه‌هایی با افزایش میل اتصال برای دیواره سلول، افزایش حلالیت و تغییر بهینه در مقاومت یونی شده است [۳۴].



شکل۴: راهکارهای مهندسی ساختارهای مدولار لیزین فاژ نشان داده شده است. دامنه‌های فعال آنزیمی (EAD) اندولیزین A و B (مستطیل‌های سبز و سفید) به دامنه‌های اتصال سلولی (CBD) خود (مستطیل‌های خاکستری و قرمز) از طریق پیوند دهنده، متصل شده‌اند. یک اندولیزین کایمر مهندسی شده را می توان با ترکیب دامنه با استفاده از حوزه فعال آنزیمی اندولیزین A و حوزه اتصال سلولی اندولیزین B به کمک پیوند دهنده مناسب ایجاد کرد[۵۶] .

تولید و تجاری‌سازی محصولات مبتنی بر اندولیزین. شرکت کانترافکت، لیزین‌هایی علیه استافیلوکوکوس اورئوس در میزبان اشریشیاکلی تولید کرده است که به راحتی می‌توانند به شکل فعال خالص شوند. ترکیب تولید شده توسط این شرکت با نام CF-301، با همکاری فیشتی و همکارانش در راکفلر ساخته شد. CF-301 اولین عامل از کلاس لیزین است که در ایالات متحده، به عنوان یک درمان سیستمیک برای باکتریمی و اندوکاردیت ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس وارد فاز دوم کارآزمایی بالینی شده است. ویژگی‌های بارز CF-301 شامل هدفمند و سریع بودن در برابر طیف وسیعی از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس از جمله آن‌هایی که به آنتی‌بیوتیک‌های معمولی مقاوم هستند، فعالیت ضد بیوفیلم قوی، تمایل کم برای ظهور مقاومت و هم‌افزایی با آنتی‌بیوتیک‌های ضداستافیلوکوک معمولی و فعالیت

Archive of SID.ir

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

باکتری‌کشی بسیار موثر در سنجش‌های آزمایشگاهی در طیف گسترده‌ای از مدل‌های حیوانی را می‌توان نام برد. این تیم در یک مدل موش با عفونت استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که CF-301 حفاظتی مشابه با دوزهای بالای داپتومایسین کیوبیسین نشان می‌دهد [۳۴،۳۵].

شرکت میکرئوس در سال ۲۰۱۷ یک لیزین به نام استافافکت XDR.300 با نام تجاری گلد اسکین به بازار عرضه کرد که دارای تاییدیه از سازمان غذا و دارو در ایالت متحده است و برای درمان عفونت‌های پوستی استافیلوکوکوس اورئوس در بیماری‌هایی مانند اگزما و آکنه به شکل کرم یا ژل یک داروی بدون نسخه استفاده قرار گرفت. این دارو به میکروفلور طبیعی پوست آسیب نمی‌رساند. میکرئوس در حال توسعه فرمول جدید است تا خلوص دارو را افزایش دهد و برای زخم‌ها و محل‌های جراحی استفاده شود. نشان داده شده است که جدایه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به درمان با آنتی‌بیوتیک موپیروسین، نسبت به استافافکت مقاوم نیستند [۳۷].

هم‌چنین آرتیلیزین کلاس جدیدی از لیزین‌ها هستند که با ترکیب اندولیزین و پپتیدهای هدفمند توسط شرکت زیست فناوری لیزاندو و ایکیوریس طراحی و تولید شده است. این یک ترکیب اصلاح شده، برای نشان دادن میل ترکیبی بالاتر به دیواره سلولی باکتری و افزایش ثبات دارو است. بخش پپتیدی آرتیلیزین‌ها، مولکول‌ها را قادر می‌سازد تا از غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی عبور کرده و به پپتیدوگلیکان برسند. بنابراین دیواره سلولی بی‌ثبات شده، باکتری توانایی مقاومت در برابر فشار اسمزی بالا را از دست داده و منجر به لیز سریع سلولی و نابودی باکتری می‌شود. علاوه بر این مشخص گردید که آرتیلیزین‌ها در برابر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با اندولیزین‌های ساده موثرتر هستند. این ترکیب ضد میکروبی جدید ویژگی‌های قابل تنظیم دارد، هر دو باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را هدف قرار می‌دهد، در برابر سویه‌های بالینی مقاوم به چند دارو فعال است، هیچ‌گونه مقاومتی گزارش نشد، موثر در نابودی بیوفیلم، فاقد عوارض جانبی، زیست تخریب‌پذیر و غیر سمی است [۳۷،۳۸].

روش‌های شناسایی فاژ و آنزیم لیتیک آن با توالی‌یابی نسل بعد. در طول دهه‌های گذشته محققان تنوع ویروس‌ها را با استفاده از روش‌های متاژنومی توصیف کرده‌اند. این مطالعات نشان داد ویروس‌هایی که باکتری‌ها را آلوده می‌کنند (باکتریوفاژها) احتمالاً از متنوع‌ترین اجزای زیست‌کره از نظر ژنتیکی هستند. از زمان کشف باکتریوفاژها بیش از یک قرن، فاژها زیست‌شناسی را متحول کردند. تحقیقات در مورد فاژ با توسعه تکنیک‌های مدرن مانند ویرایش ژنوم منجر به کشف فرآیندهای زیستی، از جمله اصول بنیادی زیست‌شناسی مولکولی، بوم‌شناسی و تکامل گردید. مطالعات اولیه نشان داد که تنوع گسترده‌ای در هر جامعه فاژی وجود دارد. در عین حال، به دلیل افزایش شیوع باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک علاقه به درمان‌های مبتنی بر آنزیم‌های لیتیک فاژ افزایش یافته است [۷،۳۹]. عصر حاضر توالی‌یابی ارزان قیمت از کل ژنوم، فناوری خودکار برای اندازه‌گیری رشد میکروب‌ها و روش‌های کارآمد با توان بالا برای غربالگری صدها یا حتی هزاران نمونه به‌طور هم‌زمان ارائه می‌دهد. با پیشرفت مداوم در فناوری‌های توالی‌یابی نسل بعدی پیشرفت‌های سریعی در زمینه شناسایی ژنوم فاژ نیز حاصل شده است. دسترسی به تعداد زیادی از ژنوم‌های فاژی به کشف ژن‌های جدید کمک کرده و در مورد تکامل فاژها و تعامل آن‌ها با میزبان‌های باکتریایی اطلاعات مفیدی ارائه می‌دهد [۴۱].

مشکلات و معایب استفاده از اندولیزین. سویه‌های باکتری‌های بیماری‌زا که به یک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند به طور فزاینده‌ای شیوع پیدا کرده‌اند، اندولیزین‌ها پتانسیل زیادی را به عنوان جایگزینی احتمالی برای آنتی‌بیوتیک‌های معمولی یا افزودن آن نشان می‌دهند. با این وجود برخی از اندولایزین‌ها هم‌چنین دارای محدودیت‌هایی مانند نیمه عمر کوتاه در داخل بدن، تولید سیتوکین‌های التهابی و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده هستند. کمبود داده‌های حاصل از آزمایشات بالینی نیز کاربرد بالینی آن‌ها را محدود می‌کند. تعدادی از رویکردهای آینده‌نگر مانند مهندسی پروتئین، توسعه سیستم‌های تحویل هدفمند به محل عفونت نیاز به زمان دارند. اندولیزین‌های کایمر، مهندسی شده و استفاده از روش‌های جدید تحویل، احتمالاً خطرات مرتبط با تجویز سیستمیک، پایداری و دامنه فعالیت میزبان را کاهش می‌دهند. داده‌های حاصل از آزمایشات بالینی در مورد اندولیزین‌های بالقوه هم‌چنین می‌تواند امید تازه‌ای برای پزشکان برای مقابله با عوامل بیماری‌زای مقاوم در برابر دارو باشد که درمان آن دشوار است و با آنتی‌بیوتیک‌های معمولی ریشه‌کن نمی‌شود. اگرچه اندولایزین‌ها توانایی بالقوه خود را در ریشه‌کن کردن عفونت‌های مهلک شدید در مدل‌های حیوانی نشان دادند، اما آزمایشات بالینی، روش‌های مقرون به صرفه برای مقیاس و ترخیص نظارتی قبل از در نظر گرفتن آن‌ها برای استفاده در سیستم بهداشت و درمان انسان، بسیار مورد نیاز است. هم‌چنین سمیت و ایمنی‌زایی موارد مهمی است که باید در طول پیشرفت بالینی درمان‌های مبتنی بر پروتئین مانند اندولایزین‌ها مورد توجه قرار گیرد. پاسخ‌های ایمنی در برابر

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

پروتئین‌های خارجی، از جمله تولید آنتی‌بادی‌های ضد دارو می‌تواند تاثیرپذیری داروها را تغییر دهد، اثر درمانی را کاهش دهد و حتی منجر به عوارض جدی مانند واکنش‌های حساسیت بیش از حد و آنافیلاکسی شود. با افزایش تعداد درمان‌های پروتئینی، تحقیقات به طور فزاینده‌ای بر کاهش ایمنی‌زایی این داروها نیز متمرکز است [۱۸،۴۲]. مسئله مهم دیگری که باید مورد بحث قرار گیرد، تولید گسترده صنعتی در هنگام ترجمه، بیان و خالص‌سازی پروتئین‌های درمانی از آزمایشگاه در مقیاس صنعتی، هزینه‌های تولید و جنبه‌های ایمنی از فاکتورهای مهمی هستند که باید مورد توجه قرار گیرند. این مربوط به کل فرایند تولید است، از انتخاب سلول میزبان بیانی (مانند باکتری‌ها، مخمرها یا گیاهان) تا مراحل پردازش پایین دست مانند برداشت و لیز سلول، شفاف‌سازی، تصفیه، پرداخت و حذف اندوتوکسین، همه این‌ها باید تحت استانداردهای عملکرد خوب تولید (GMP) انجام شوند. علاوه بر این، محصول دارو باید به روشی فرموله شود که ثبات و سازگاری کافی با روش تجویز مورد نظر را تضمین کند [۴۳].

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش عفونت باکتری‌های بیماری‌زا مقاوم به یک یا چند دارو در سراسر جهان، اندولیزین‌ها به عنوان یک راه حل جایگزین مورد توجه قرار گرفته است. اندولیزین‌ها پتانسیل زیادی را به عنوان جایگزین احتمالی برای آنتی‌بیوتیک‌های معمولی یا افزودن به آن‌ها جهت افزایش اثربخشی دارو در درمان باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان می‌دهند. فعالیت لیتیک و خاصیت ضدباکتریایی بالای آن‌ها و کم بودن احتمال مقاومت در برابر آن‌ها باعث می‌شود که به عنوان یک جایگزین امیدوارکننده ضد میکروبی در برابر پاتوژن‌های باکتریایی متعدد و در زمینه‌های مختلف مانند دام‌پزشکی و پزشکی مورد استفاده قرار گیرند و دارای مزایای بسیاری در بخش‌هایی مانند کشاورزی و زیست فناوری هستند. با این وجود درمان باکتری‌های گرم منفی به دلیل نازک بودن لایه پپتیدوگلیکان و وجود غشای خارجی در دیواره سلولی باکتری همواره با مشکلاتی روبرو است. برای حل این مشکل از روش‌هایی شامل افزودن مواد افزودنی کم‌هزینه مانند یون‌های گلیسرول و کلسیم استفاده می‌شود و راه‌کارهای جدید تحویل ممکن است اثربخشی این اندولایزین‌ها را افزایش دهد. یکی دیگر از محدودیت‌های اندولیزین، نیمه عمر کوتاه آن در داخل بدن است که به دلیل تولید پاسخ ایمنی، فعالیت لیتیک اندولیزین را محدود می‌کند. در مقابل اندولیزین فاژها به سلول‌های بدن آسیب نمی‌رسانند و عوارض جانبی کم‌تری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. با این وجود اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها دارای دامنه میزبان وسیع هستند و می‌توانند طیف وسیعی از باکتری‌ها را هم‌زمان از بین ببرند. هم‌چنین علی‌رغم تحقیقات گسترده در زمینه استفاده از اندولیزین‌ها به عنوان یک دارو، با مشکلات بسیاری روبرو است. ولی تحقیقات در زمینه فاژ درمانی و اندولیزین فاژ در حال پیشرفت است و نیاز به آزمایشات بیش‌تری وجود دارد. هم‌چنین اخیراً توجه محققان به اندولیزین افزایش یافته است و به کمک مهندسی اندولیزین و تولید لیزین‌های کایمر با طیف اثر گسترده‌تر و کشندگی بیش‌تر در حال رفع این مشکلات هستند. علاوه بر این، محققان اخیراً بر توسعه انتقال جدید مبتنی بر فناوری نانو برای عوامل ضدمیکروبی، از جمله اندولایزین فاژ متمرکز شده‌اند. سیستم‌های با کنترل آزاد، که بسته به پارامترهای نشان‌دهنده التهاب، امکان انتقال اندولایزین به سایت‌های عفونی را فراهم می‌کند، ممکن است مورد توجه ویژه‌ای برای پیشرفت‌های آینده باشد. در نتیجه، اندولایزین‌ها نویدبخش خوبی برای استفاده به عنوان عوامل درمانی جدید علیه عفونت‌های باکتریایی است که دارای چندین مزیت مهم از جمله فعالیت کاتالیزوری و پتانسیل مهندسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتی دارند. اولین محصولات مبتنی بر اندولیزین قبلاً وارد بازار شده‌اند و با توجه به آزمایشات بالینی مداوم، می‌توان انتظار داشت که در آینده نزدیک پیشرفت‌های بیش‌تری انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه سمنان انجام گرفت.

مشارکت و نقش نویسندگان

نقش هر یک از نویسندگان این مقاله به شرح زیر است: درویش علیپور: ایده و طراحی مطالعه، مجلسین: جمع‌آوری داده‌ها و نگارش نسخه اول مقاله، ابوالمعالی و بیجاری: آنالیز و تفسیر نتایج، درویش علیپور. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

منابع

[1] Mirhoseini SH, Nikaeen M, Shamsizadeh Z, Aali R. Prevalence and molecular identification of antibiotic resistant airborne bacteria at intensive care units. Koomesh 2018; 20: 772-778. (Persian).

[2] Frieri M, Kumar K, Boutin A. Antibiotic resistance. J Infect Public Health 2017; 10: 369-378. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007 PMid:27616769

[3] Falco A, Medina-Gali RM, Poveda JA, Bello-Perez M, Novoa B, Encinar JA. Antiviral activity of a Turbot

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

[20] Van Tassell ML, Ibarra-Sánchez LA, Hoepker GP, Miller MJ. Hot topic: Antilisterial activity by endolysin PlyP100 in fresh cheese. J Dairy Sci 2017; 100: 2482-2487. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11990 PMid:28161174

[21] Cho JH, Kwon JG, O'Sullivan DJ, Ryu S, Lee JH. Development of an endolysin enzyme and its cell wall-binding domain protein and their applications for biocontrol and rapid detection of Clostridium perfringens in food. Food Chem 2021; 345: 128562. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128562 PMid:33189482

[22] Shannon R, Radford DR, Balamurugan S. Impacts of food matrix on bacteriophage and endolysin antimicrobial efficacy and performance. Crit Rev Food Sci Nutr 2020; 60: 1631-1640. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1584874 PMid:30880427

[23] Ribelles P, Benbouziane B, Langella P, Suárez JE, Bermúdez-Humarán LG, Riazi A. Protection against human papillomavirus type 16-induced tumors in mice using non-genetically modified lactic acid bacteria displaying E7 antigen at its surface. Appl Microbiol Biotechnol 2013; 97: 1231-1239. https://doi.org/10.1007/s00253-012-4662-3 https://doi.org/10.1007/s00253-012-4575-1 PMid:23212671

[24] Hu S, Kong J, Kong W, Guo T, Ji M. Characterization of a novel LysM domain from Lactobacillus fermentum bacteriophage endolysin and its use as an anchor to display heterologous proteins on the surfaces of lactic acid bacteria. Appl Environ Microbiol 2010; 76: 2410-2418. https://doi.org/10.1128/AEM.01752-09 PMid:20173067 PMCid:PMC2849211

[25] Kim WS, Salm H, Geider K. Expression of bacteriophage ϕEa1h lysozyme in Escherichia coli and its activity in growth inhibition of Erwinia amylovora. Microbiology 2004; 150: 2707-2714. https://doi.org/10.1099/mic.0.27224-0 PMid:15289567

[26] Schmelcher M, Loessner MJ. Bacteriophage endolysins: applications for food safety. Curr Opin Biotechnol 2016; 37: 76-87. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.10.005 PMid:26707470

[27] Rodríguez-Rubio L, Gutiérrez D, Donovan DM, Martínez B, Rodríguez A, García P. Phage lytic proteins: biotechnological applications beyond clinical antimicrobials. Crit Rev Biotechnol 2016; 36: 542-552.

[28] Doehn JM, Fischer K, Reppe K, Gutbier B, Tschernig T, Hocke AC, et al. Delivery of the endolysin Cpl-1 by inhalation rescues mice with fatal pneumococcal pneumonia. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 2111-2117. https://doi.org/10.1093/jac/dkt131 PMid:23633685

[29] Haddad Kashani H, Schmelcher M, Sabzalipoor H, Seyed Hosseini E, Moniri R. Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant Staphylococcus aureus: current status of research and novel delivery strategies. Clin Microbiol Rev 2018; 31: e00071-17. https://doi.org/10.1128/CMR.00071-17 PMid:29187396 PMCid:PMC5740972

[30] Schmelcher M, Waldherr F, Loessner MJ. Listeria bacteriophage peptidoglycan hydrolases feature high thermoresistance and reveal increased activity after divalent metal cation substitution. Appl Microbiol Biotechnol 2012; 93: 633-643. https://doi.org/10.1007/s00253-011-3372-6 PMid:21720825

[31] Haddad Kashani H, Fahimi H, Dasteh Goli Y, Moniri R. A novel chimeric endolysin with antibacterial activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Front Cell Infect Microbiol 2017; 7: 290. https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00290 PMid:28713777 PMCid:PMC5491540

[32] Son B, Kong M, Lee Y, Ryu S. Development of a novel chimeric endolysin, Lys109 with enhanced lytic activity against Staphylococcus aureus. Front Microbiol 2021; 11: (Scophthalmus maximus) NK-lysin peptide by inhibition of low-pH virus-induced membrane fusion. Mar Drugs 2019; 17: 87. https://doi.org/10.3390/md17020087 PMid:30717094 PMCid:PMC6410327

[4] Tahmasebi H, Dehbashi S, Arabestani MR. Resistance pattern to macrolides and tetracyclines and detection of ermA, ermB, emrC and mphc genes in clinical isolates of Staphylococcus aureus producing toxic shock syndrome toxin-1. Koomesh 2018; 21: 188-194. (Persian).

[5] Caflisch KM, Patel R. Implications of bacteriophage- and bacteriophage component-based therapies for the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 2019; 57: e00229-19. https://doi.org/10.1128/JCM.00229-19 PMid:31092596 PMCid:PMC6663902

[6] Walmagh M. Development and evaluation of engineered bacteriophage endolysins to inactivate Gram-negative bacteria. 2013.

[7] Wittebole X, De Roock S, Opal SM. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. Virulence 2014; 5: 226-235. https://doi.org/10.4161/viru.25991 PMid:23973944 PMCid:PMC3916379

[8] Gordillo Altamirano FL, Barr JJ. Phage therapy in the postantibiotic era. Clin Microbiol Rev 2019; 32: e00066-18. https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18 PMid:30651225 PMCid:PMC6431132

[9] C. Loc-Carrillo and S. T. Abedon. Pros and cons of phage therapy. Bacteriophage 2011; 1: 111-114. https://doi.org/10.4161/bact.1.2.14590 PMid:22334867 PMCid:PMC3278648

[11] Doss J, Culbertson K, Hahn D, Camacho J, Barekzi N. A review of phage therapy against bacterial pathogens of aquatic and terrestrial organisms. Viruses 2017; 9: 50. https://doi.org/10.3390/v9030050 PMid:28335451 PMCid:PMC5371805

[12] F. Abdelrahman et al. Phage-encoded endolysins. Antibiotics 2021; 10: 124. https://doi.org/10.3390/antibiotics10020124 PMid:33525684 PMCid:PMC7912344

[13] Murray E, Draper LA, Ross RP, Hill C. The advantages and challenges of using endolysins in a clinical setting. Viruses 2021; 13: 680. https://doi.org/10.3390/v13040680 PMid:33920965 PMCid:PMC8071259

[14] Chu JJ, Poh WH, Hasnuddin NT, Hew EY, Dam LC, Sahili AE, et al. Novel phage lysin Abp013 against Acinetobacter baumannii. Antibiotics 2022; 11: 169. https://doi.org/10.3390/antibiotics11020169 PMid:35203772 PMCid:PMC8868305

[15] Gontijo MT, Jorge GP, Brocchi M. Current status of endolysin-based treatments against Gram-negative bacteria. Antibiotics 2021; 10: 1143. https://doi.org/10.3390/antibiotics10101143 PMid:34680724 PMCid:PMC8532960

[16] Bragg RR, Meyburgh CM, Lee JY, Coetzee M. Potential treatment options in a post-antibiotic era. Infect Dis Nanomedicine III 2018; 51-61. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7572-8_5 PMid:29785480

[17] Love MJ, Abeysekera GS, Muscroft-Taylor AC, Billington C, Dobson RC. On the catalytic mechanism of bacteriophage endolysins: Opportunities for engineering. Biochim Biophys Acta 2020; 1868: 140302. https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.140302 PMid:31678195

[18] Gondil VS, Harjai K, Chhibber S. Endolysins as emerging alternative therapeutic agents to counter drug-resistant infections. Int J Antimicrob Agents 2020; 55: 105844. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.11.001 PMid:31715257

[19] Fischetti VA. Bacteriophage lysins as effective antibacterials. Curr Opin Microbiol 2008; 11: 393-400. https://doi.org/10.1016/j.mib.2008.09.012 PMid:18824123 PMCid:PMC2597892

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.01.009
https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.04.007
[46] Nelson D, Schuch R, Chahales P, Zhu S, Fischetti VA. PlyC: a multimeric bacteriophage lysine. Proc Natl Acad Sci 2006; 103: 10765-10770.
https://doi.org/10.1073/pnas.0604521103
PMid:16818874 PMCid:PMC1487170
[47] Nelson D, Loomis L, Fischetti VA. Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A Streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme. Proc Natl Acad Sci 2001; 98: 4107-4112.
https://doi.org/10.1073/pnas.061038398
PMid:11259652 PMCid:PMC31187
[48] Loeffler JM, Nelson D, Fischetti VA. Rapid killing of Streptococcus pneumoniae with a bacteriophage cell wall hydrolase. Science 2001; 294: 2170-2172.
https://doi.org/10.1126/science.1066869
PMid:11739958
[49] Varea J, Monterroso B, Sáiz JL, López-Zumel C, García JL, Laynez J, et al. Structural and thermodynamic characterization of Pal, a phage natural chimeric lysin active against pneumococci. J Biol Chem 2004; 279: 43697-43707.
https://doi.org/10.1074/jbc.M407067200
PMid:15247237
[50] Rodríguez-Rubio L, Martínez B, Rodríguez A, Donovan DM, García P. Enhanced staphylolytic activity of the Staphylococcus aureus bacteriophage vB_SauS-phiIPLA88 HydH5 virion-associated peptidoglycan hydrolase: fusions, deletions, and synergy with LysH5. Appl Environ Microbiol 2012; 78: 2241-2248.
https://doi.org/10.1128/AEM.07621-11
PMid:22267667 PMCid:PMC3302612
[51] Loessner MJ, Wendlinger G, Scherer S. Heterogeneous endolysins in Listeria monocytogenes bacteriophages: a new class of enzymes and evidence for conserved holin genes within the siphoviral lysis cassettes. Mol Microbiol 1995; 16: 1231-1241.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1995.tb02345.x
PMid:8577256
[52] Loessner MJ, Kramer K, Ebel F, Scherer S. C-terminal domains of Listeria monocytogenes bacteriophage murein hydrolases determine specific recognition and high-affinity binding to bacterial cell wall carbohydrates. Mol Microbiol 2002; 44: 335-349.
https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02889.x
PMid:11972774
[53] Briers Y, Peeters LM, Volckaert G, Lavigne R. The lysis cassette of bacteriophage ϕKMV encodes a signal-arrest-release endolysin and a pinholin. Bacteriophage 2011; 1: 25-30.
https://doi.org/10.4161/bact.1.1.14868
PMid:21687532 PMCid:PMC3109451
[54] Walmagh M, Boczkowska B, Grymonprez B, Briers Y, Drulis-Kawa Z, Lavigne R. Characterization of five novel endolysins from Gram-negative infecting bacteriophages. Appl Microbiol Biotechnol 2013; 97: 4369-4375.
https://doi.org/10.1007/s00253-012-4294-7
PMid:22832988
[55] Mikoulinskaia GV, Odinokova IV, Zimin AA, Lysanskaya VY, Feofanov SA, Stepnaya OA. Identification and characterization of the metal ion-dependent l-alanoyl-d-glutamate peptidase encoded by bacteriophage T5. FEBS J 2009; 276: 7329-7342.
https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07443.x
PMid:19919545
[56] Kim B, Kim ES, Yoo YJ, Bae HW, Chung IY, Cho YH. Phage-derived antibacterials: Harnessing the simplicity, plasticity, and diversity of phages. Viruses 2019; 11: 268.
https://doi.org/10.3390/v11030268
PMid:30889807 PMCid:PMC6466130
615887.
https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.615887
PMid:33519773 PMCid:PMC7843465
[33] Mao J, Schmelcher M, Harty WJ, Foster-Frey J, Donovan DM. Chimeric Ply187 endolysin kills Staphylococcus aureus more effectively than the parental enzyme. FEMS Microbiol Lett 2013; 342: 30-36.
https://doi.org/10.1111/1574-6968.12104
PMid:23413880 PMCid:PMC3690576
[34] Becker SC, Roach DR, Chauhan VS, Shen Y, Foster-Frey J, Powell AM, et al. Triple-acting lytic enzyme treatment of drug-resistant and intracellular Staphylococcus aureus. Sci Rep 2016; 6: 1-10.
https://doi.org/10.1038/srep25063
PMid:27121552 PMCid:PMC4848530
[35] Parmley S. Lysin in wait. Sci Exch 2014; 7: 1369.
https://doi.org/10.1038/scibx.2014.1369[
36] Indiani C, Sauve K, Raz A, Abdelhady W, Xiong YQ, Cassino C, et al. The antistaphylococcal lysin, CF-301, activates key host factors in human blood to potentiate methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteriolysis. Antimicrob Agents Chemother 2019; 63: e02291-18.
https://doi.org/10.1128/AAC.02291-18
PMid:30670427 PMCid:PMC6437495
[37] Rahman MU, Wang W, Sun Q, Shah JA, Li C, Sun Y, et al. Endolysin, a promising solution against antimicrobial resistance. Antibiotics 2021; 10: 1277.
https://doi.org/10.3390/antibiotics10111277
PMid:34827215 PMCid:PMC8614784
[38] Briers Y, Lavigne R. Breaking barriers: expansion of the use of endolysins as novel antibacterials against Gram-negative bacteria. Future Microbiol 2015; 10: 377-390.
https://doi.org/10.2217/fmb.15.8
PMid:25812461
[39] Gerstmans H, Rodríguez-Rubio L, Lavigne R, Briers Y. From endolysins to Artilysin® s: novel enzyme-based approaches to kill drug-resistant bacteria. Biochem Soc Trans 2016; 44: 123-128.
https://doi.org/10.1042/BST20150192
PMid:26862197
[40] Reyes A, Semenkovich NP, Whiteson K, Rohwer F, Gordon JI. Going viral: next-generation sequencing applied to phage populations in the human gut. Nat Rev Microbiol 2012; 10: 607-617.
https://doi.org/10.1038/nrmicro2853
PMid:22864264 PMCid:PMC3596094
[41] Kortright KE, Chan BK, Koff JL, Turner PE. Phage therapy: a renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria. Cell Host Microbe 2019; 25: 219-232.
https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014
PMid:30763536
[42] Schmelcher M, Loessner MJ. Bacteriophage endolysins-Extending their application to tissues and the bloodstream. Curr Opin Biotechnol 2021; 68: 51-59.
https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.09.012
PMid:33126104
[43] Fischetti VA. Exploiting what phage have evolved to control gram-positive pathogens. Bacteriophage 2011; 1: 188-194.
https://doi.org/10.4161/bact.1.4.17747
PMid:23050211 PMCid:PMC3448103
[44] Roach DR, Donovan DM. Antimicrobial bacteriophage-derived proteins and therapeutic applications. Bacteriophage 2015; 5: e1062590.
https://doi.org/10.1080/21597081.2015.1062590
PMid:26442196 PMCid:PMC4590002
[45] Porfírio S, Carlson RW, Azadi P. Elucidating peptidoglycan structure: an analytical toolset. Trends Microbiol 2019; 27: 607-622.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

Koomesh -Volume 25, Issue 4 July and August 2023, 407 - 419

Introducing the characteristics of Endolysin as an alternative to antibiotics

Farnoosh Majlesain (M.Sc Student)[1], Shamsozoha Abolmaali (Ph.D)[2], Shakiba Darvish Alipour Astaneh (Ph.D)[*1], Nooshin Bijari (Ph.D)[2]

1- Dep. for Biotechnology, Faculty of New Sciences and Technologies, Semnan University, IRAN

2 - Dep. for Biology, Faculty of Basic Science, Semnan University, IRAN

* Corresponding author. +98 23-31 53 2288 Darvishalipour@semnan.ac.ir

Received: 14 Feb 2023; Accepted: 23 Aug 2023

The emergence of antibiotic-resistant bacterial strains has become a global crisis for public health. There are many concerns about the increase of multi-drug resistant bacteria so that some diseases cannot be effectively treated. There is an urgent need to develop alternatives to conventional antibiotics for human and animal treatment. As an alternative to antibiotics, endolysins are interesting due to their high antibacterial activity and properties against numerous bacterial pathogens and in various fields of application, including medicine, food safety, and agriculture. Most phage endolysins show a wide spectrum of activity. Several features of these enzymes, including their high activity, are the presence of two catalytic domains in their structure, which further reduces the possibility of resistance formation, also, the mechanism of action and their type of lytic activity support their further exploitation as valuable and strong antibacterial agents for the treatment of infections. In this review, the structure and mechanism of endolysin, as well as its benefits as an alternative to antibiotics, and the problems in this field are stated. Moreover, the applications and advances of endolysin have been reviewed, and the newly engineered endolysins as potential candidates have been introduced.

Keywords: Alternatives, Antibiotics, Endolysin, Phage Therapy, Protein Engineering

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-03]

Archive of SID.ir