ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

روش های بیوتکنولوژی جدید در باکتریوسین: مقاله مروری

چکیده

امروزه مصرف کنندگان عمدتا نگران سلامت افزودنی‌های خوراکی هستند. سلامت غذاهای طبیعی و سنتی که بدون افزودن مواد شیمیایی تهیه می‌شوند بسیار جالب توجه است. یکی از جایگزین‌های این درخواست باکتریوسین‌ها هستند. این مواد پپتیدهای ضد میکروبی هستند که بوسیله تعداد زیادی از باکتریها تولید می‌شوند که شامل باکتری لاکتیک اسید می‌شود که به طور طبیعی تقابل نزدیکی با فساد برخی از بیماری های ناشی از عوامل بیماری زای باکتریایی گرم مثبت دارد. به همین دلیل این مواد دارای کاربردهای زیادی در میان گونه هایی که بطور زیستی حفاظت میشوند، افزیش زمان ماندگاری، فعالیتهای غیرمیکروبی بالینی و کنترل تخمیر میکروبی هستند. مطالعات سم شناسی نشان می‌دهند که مصرف نیسین اگر دارای دوز کشنده 6950 میلی گرم بر کیلوگرم باشد، باعث ایجاد اثرات سمی در انسان نمی‌شود. بنابراین یکی از مهمترین باکتریوسین‌ها در صنایع غذایی است که به عنوان یک عامل ضد بوتولیسم در پنیر و تخم مرغ‌های مایع، سس‌ها و غذاهای کنسرو شده عمل می‌کند. همچنین نشان‌دهنده طیف وسیعی از عملکردهای ضد میکروبی در برابر لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و سایر عوامل بیماری‌زا است. فرایندهای تکمیلی روی مواد غذایی درجه‌بندی شده مانند شیر یا کشک با تولید خارج سلولی باکتریوسین حاصل از تخمیر انجام می‌شود. مواد آماده‌سازی می‌توانند به صورت غلظت‌های کمی خالص یا خالص که مورد نیاز تاییدیه هایی از دیدگاه حفاظت قانونی است انجام شود. نیاز به ترکیبات ضدباکتریوئیدی جدید موجب ایجاد علاقمندیهای زیادی در زمینه تکنولوژی های جدید شده که قادرند سلامت غذاهای میکروبیولوژی را افزایش دهند. همچنین کاهش قابل توجه در پاتوژنهای مقاوم به آنتی بیوتیک تلاشهای جدیدی را در زمینه تشخیص، توسعه یا طراحی مجدد گروه آنتی بیوتیک در برابر باکتری‌های با مقاومت چندگانه می‌طلبد. آنتی‌باکتری‌های متعددی برای این کار استفاده می‌شوند که شامل باکتریوفاژها، پروبیوتیکها، پپتیدهای ضد میکروبی و باکتریوسینها هستند. جهت مشاهده بهینه فعالیت مطلوب آنها از روشهای مهندسان شیمی یا ژنتیک استفاده میشود. در این مقاله ما بیشتر

بر روی طبقه بندی باکتریوسینها، نحوه عمل، کاربردهای بیوتکنولوژیک در صنایع غذایی و داروسازی، روشهای استخراج و امنیت زیستی آن بحث می‌کنیم. همچنین اخیرا تلاشهایی در زمینه طراحی باکتریوسیینها با استفاده از تکنیکهای مهندسی ژنتیک انجام شده است.

مقدمه

باکتری لاکتیک اسید (lab) گروهی متنوع و مفیدی از باکتری ها هستند در حالی که به هیچ گروه تاکسونومیک تعلق ندارند و براساس ویژگی های مشترک خود تقسیم میشوندو دارای صفت معمولی تولید اسید لاکتیک به عنوان مهمترین یا تنهاترین محصول تخمیری هستند. به همین دلیل، LAB از نظر پیشینه ای با تخمیر غذاها و در نتیجه بسیاری از LAB ها مانند *Lactococcus, Oenococcus, Lactobacillus*، *Leuconostoc*، *Pedicoccus* و *Streptococcus sp*. ارتباط دارند و عموما به عنوان GRAS و یا پروبیوتیک شناخته می‌شوند.

ویژگی‌های مطلوب یک استرین پروبیوتیک توانایی تولید مواد ضدمیکروبی مانند باکتریوسین است که توانایی افزایش مزیت رقابتی و کلونی کردن مواد معده می‌شوند. باکتریوسینها معمولا به عنوان یک پپتید ساخته شده توسط باکتریها شناخته می‌شوند که موجب بازدارندگی یا کشتن سایر میکروارگانیزمهای مرتبط یا غیرمرتبط می‌شوند. باکتریوسین اولین بار توسط Gratia (1925 به عنوان یک پروتئین آنتی میکروبی تولید شده توسط اشریشیاکلای شناخته شد و کولیسین نام گرفت. علاقه به باکتریوسین‌های تولید شده توسط میکروارگانیزمهای GRAS منجر به توجه قابل ملاحظه ای به نیسین میشود که اولین باکتریوسینی بود که از سال 1969 بصورت فراگیر مورد استفاده قرار گرفت. در نتیجه این زمینه توسعه زیادی یافت که موجب کشف خصوصیات تعداد زیادی از باکتریوسینهای LAB در دهه های اخیر شده است.

امروزه مصرف کنندگان از مسئله سلامت افزودنیهای خوراکی، مزایای سلامتی غذهای طبیعی و سنتی، فرآوری بدون افزودن حفاظت کننده های شیمیایی آگاه هستند که بسیار جذاب است. بنابراین امروزه به دلیل نیاز مصرف کنندگان به غذاهای با کیفیت بالا و طبیعی، همچنین فشارهای دولت جهت تایید سلامت غذایی، تولید کنندگان غذا با چالش های مختلفی روبرو هستند. افزودنیهای شیمیایی عموما برای مبارزه با میکروارگانیزمهای

خاصی استفاده می‌شوند. استفاده از باکتریوسینها به عنوان محافظ طبیعی غذاهای گیاهی از حدود 25 سال پیش مورد استفاده قرار میگیرند. در این سالها، مطالعات زیادی بر بازدارندگی فساد و یا عوامل بیماری‌زای انسانی مرتبط با غذاهای گیاهی و نوشیدنی‌ها بوسیله باکتریوسین‌ها و کاربرد آنها به عنوان جایگزین مناسبی برای ترکیبات شیمیایی و غیر میکروبی انجام شده است. وقتی باکتریوسین اضافه می‌شود یا در محیط آزمایشگاه تولید می‌شود، نقش مهمی در کنترل عوامل بیماری‌زا و فلورهای نامطلوب و همچنین گسترش جمعیت باکتریایی مفید ایفا می‌کند. بطور سنتی باکتریوسین‌های جدیدی به وسیله باکتریهای استخراج شده‌ای شناسایی شده اند که دارای فعالیت آنتی میکروبی هستند و در اثر استخراج و تشخیص باکتریوسینها معرفی شده و توالی ژنتیکی آنها شناسایی شده است. این راهبردها هنوز هم برای تشخیص و شناسایی باکتریوسینهای قدرتمند زیرکلاس ها و کلاس IIa باکتریوسینها که avicin A نامیده میشوند، شرکت میکنند این ترکیب در تشخیص استرین Enterococcus avium استخراج شده از نمونه های کدکان در اتیوپی و نروژ به صورت یک باکتریوسین کروی شناسایی شد که garvicin ML نام گرفت و بوسیله یک Lactococcus garvieae استخراج شده در اردک تولید شد که کلاس IIb باکتریوسین است و enterocin X استخراج شده از سویه *Enterococcus faecium* حاصل از سیب شیرین یافت شد. این ترکیب یک باکتریوسین گلی اکسیلات حاصل از *Lactobacillus plantarum* حاصل از ذرت تخمیر شده است.

در بخش بعدی طبقه‌بندی باکتریوسین‌ها، نحوه عمل و ساختار آن، روشهای بیوتکنولوژیک در غذا و صنعت داروسازی و مشکلات ناشی از مقاومت و استخراج آن قابل مشاهده است.

2. طبقه بندی

بر اساس نتایج Klaenhammer (1993) باکتریوسین‌ها را می‌توان به 4 کلاس تقسیم کرد. گروه یک لانتیبیوتیک‌ها، بوسیله نیسین مشخص می‌شوند و پپتیدهای دارای وزن مولکولی کم را جمع می‌کنند که بوسیله لانتیونین و مشتقات آن مشخص شده‌اند. کلاس II ترکیبی از پپتیدهای ترموستابل کوچک است که به سه زیر کلاس تقسیم می‌شوند: IIa (پدیوسین‌ها و انتروسین)، IIb (لاکتونین G) و IIc (لاکتوسین B). کلاس III بوسیله پپتیدهای دارای وزن مولکولی بالا مانند helveticin J مشخص شده است، در حالیکه در گروه 5

پپتیدهایی یافت میشود که با کربوهیدراتها یا لیپیدها ترکیب میشوند. با این حال Cleveland, Montville, Nes و Chikindas (2001) معتقدند که این ترکیبات مصنوعی هستند یا بخشی از آنها استخراج شده اند و گروه جدیدی از باکتریوسینها نیستند.

Cotter, Hill و Ross (2005) پیشنهاد کردند که طبقه بندی جدیدی وجود دارد که باکتریوسین‌ها را به دو گروه تقسیم می‌کند: لانتیبیوتیک‌ها (کلاس1) و لانتیبیوتیک‌های فاقد لانتیونین (کلاس 2)، در حالی که پپتیدهای دارای وزن مولکولی بالا که معمولا بخشی از ترکیبات کلاس III هستند که به طور جداگانه باکتریولایسین نامیده می‌شوند. این نویسندگان پیشنهاد کردند که کلاس IV باید وجود داشته باشد. در نهایت Mcmullen,Drider, Fimland, Hechard و Prevost (2006) باکتریوسین‌ها را به سه گروه اصلی تقسیم می‌کنند که بر اساس ویژگی‌های ژنتیکی و بیوشیمیایی آن است و در ادامه توضیح داده می‌شود.

جدول 1. طبقه‌بندی باکتریوسین‌ها

Classification	Features	Subcategories	Examples
Class I or lantibiotics	Lantionine or peptides containing β-lantionine	Type A (linear molecules) Type B (globular molecule)	Nisin, subtilin, epidermine Mersacidin
Class II	Heterogeneous class of small thermostable peptides	Subclass IIa (antilisterial-pediocine bacteriocins type) Subclass IIb (composed of two peptides) Subclass IIc (other bacteriocins)	Pediocin, enterocin, sakacin Plantaricin, lactacin F Lactococcin
Class III	Large thermolabile peptides		Helveticin J, millericin B

Source: Adapted from Drider et al. (2006).

2.1 کلاس I یا لانتیبیوتیک‌ها

لانتیبیوتیک‌ها پپتیدهای کوچکی هستند (19-38 آمینواسیدی) که اسیدهای آمینه آن به ندرت در برابر گرما پایدارند که باعث ترکیب دو آلانین بوسیله پیوند دی سولفیدی یا تشکیل یک آمینوبوتریک اسید متصل به آلانین توسط یک پیوند دی‌سولفیدی و تشکیل b-methyl-lanthionine می‌شوند.

مهمترین شاخص این کلاس نیسین است که بوسیله برخی سویه‌های *Lactococcus lactis subsp. Lactis* و ترکیبی از 34 اسید آمینه تولید می‌شوند. دو واریته‌ی نیسین A و نیسین Z از نظر ساختاری تنها در یک اسید آمینه با هم متفاوتند، اما فعالیت مشابهی دارند. به دلیل ماهیت اسیدی مولکول، نیسین در ترکیبی با PH معادل 2 پایدار است و می‌تواند به مدت زیادی در محدوده دمایی 2-7 درجه ذخیره شود، درحالی‌که در PH بالای 7 در دمای اتاق غیر فعال هستند. مطالعات سم‌شناسی نشان می‌دهند که نیسین هیچ تاثیر سمی بر

انسان ندارد و LD50 آن معادل 6950 است. بطور کلی برخی از نویسندگان LD50 بالایی را باکتریوسین‌ها در نظر می‌گیرند که قادرند به سرعت تریپسین و شیموتریپسین موجود در پانکراس را غیرفعال کنند.

نیسین استفاده وسیعی در صنعت غذا به عنوان یک عامل آنتی بوتولینی در پنیر و تخم مرغ مایع، سس و غذاهای کنسروی دارد. این مولکول طیف وسیعی از فعالیتهای ضدمیکروبی را نشان میدهد که در برابر *L. monocytogenes*، *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* و سایر پاتوژن‌ها و گونه های LAB عمل می‌کنند. این موضوع به وسیله یک مکانیزم فعالیت دوگانه توضیح داده می‌شود که در سنتز دیواره سلولی و افزایش تخمیر در غشا سلولی نقش دارند. در نتیجه قابلیت نفوذ غشا در اثر خروج ترکیبات ضروری (یون پتاسیم، اسیدآمینه و ATP) تغییر می‌کند و باعث مرگ سلول میشود.

نیسین تنها باکتریوسینی است که برای کاربردهای غذایی استفاده می‌شود که به نظر می‌رسد از نظر غذایی و سازمان‌های سلامت کشاورزی در سال 1969 تایید شده است. بر اساس اظهارات (Ross, Morgan, and Hill (2002، محصولات لبنی دارای نیسین می‌توانند به عنوان یک افزودنی غذایی جهت فرآوری پنیر در غلظتهای بیشتر از 12.5 میلی گرم بر کیلوگرم نیسین خالص استفاده شوند. علاوه بر این به عنوان حفاظت کننده‌ای طبیعی در لیست افزودنی‌های غذایی اروپا استفاده می‌شود.

2.2 کلاس II

این زیرکلاس از پپتیدهای پایدارگرمایی کوچکی تشکیل شده است که ساختارهای آمپیفیلیک هلیکال دارند و از غشای سیتوپلاسمی عبور می‌کنند تا به سلول هدف خود برسند، بنابراین موجب افزایش دپلاریزه شدن غشا و مرگ سلول می‌شوند. سه زیرکلاس برای این گروه بر اساس اظهارات (Drider et al. (2006 پیشنهاد شده است.

2.2.1زیرکلاس IIA

این زیر کلاس ترکیبی از باکتریوسین است و دارای ویژگیهای خاصی در مواجهه *L. monocytogenes* است. دارای 37-48 اسیدآمینه و یک پروتئین N-terminal است که دارای ساختمان صفحه‌ای و یک پروتئین انتهای کربوکسیلی با یک یا دو آلفا هلیکس است. باکتریوسین‌های این کلاس به وسیله انتهای کربوکسیلی به

داخل غشای سلولی میکروارگانیزم هدف می‌افتند و باعث افزایش شکل‌گیری حفره‌ها و درنتیجه کاهش حرکت پروتون می‌شوند. تلاش در جهت حفظ یا بازیابی نیروی رانش پروتون، مصرف atp تسریع می‌شود و در نتیجه مرگ سلول حادث خواهد شد.

پدیوسن PA-1 که ترکیبی از 44 اسیدآمینه است تنها باکتریوسینی است که متعلق به زیرکلاس IIaاست که نه تنها بوسیله گونه‌های مختلف بلکه بوسیله جنس‌های دیگر LAB نیز سنتز می‌شود. در ابتدا در *Pediococcus acidilactici* شناسایی شد. پس از آن سویه‌ها و گونه‌های دیگر پدیوکوکی به عنوان تولیدکننده پدیوسین شناسایی شدند. Ennahar و همکارانش. یک سویه از *L. plantarum* را از پنیر مونستر استخراج کردند که می‌تواند پدیوسین AcH را تولید کند، یک باکتریوسین دارای تاثیری آنتاگونیستی بر میکروارگانیزمهای پاتوژنیک و مخرب است که در L. monocytogenes, S. aureus and Clostridium perfringens وجود دارد.

اولین اینتروسین توسط Kjems (1955) شناسایی شد و در نتیجه به عنوان عضوی از خانواده پدیوسین معرفی شد. پس از آن اینتروسین های مختلفی شناسایی شدند که در طبقات مختلف باکتریوسین ها قرار گرفتند. معمولا در برابر حرارت پایدار هستند (121oc/15 min) و به لیپولیزاسیون و انبارداری طولانی مدت در دمای 20- درجه مقاومند. بر اساس اظهارات Cintas, Casaus, Havarstein, (Hernandez, and Nes 1997), این ترکیبات فعالیت آنتی‌میکروبی انتخابی دارند و با Leuconostoc و Lactococcus رابطه آنتاگونیستی نشان نمی‌دهند؛ اما به S. aureus,C. perfringens, Clostridium botulinum و بخصوص گونه های جنس لیستریا حمله می‌کنند.

2.2.2 زیر کلاس IIB

این زیرکلاس شامل باکتریوسین‌های هترودیمری مانند باکتریوسین است که نیازمند فعالیت تلفیقی دو پپتید است. معمولا ژنها در اپرانهای مشابهی قرار می‌گیرند و بطور همزمان بیان می‌شوند و دو پپتید که بصورت ترکیبی فعالیت می‌کنند اثرات سینرژیک مهمی را نشان می‌دهند. مکانیزم عمل آنها شامل کاهش پتانسیل غشا و تجمع درون سلولی ATP است. این پپتیدها در صورت عمل مجزا فعالیت بسیار پایینی دارند.

2.2.3 باکتریوسین‌ها به این زیرکلاس تعلق دارند و پیوند کووالانسی بین C و N ترمینال آن وجود دارد که باعث ساختار حلقوی می‌شوند. اینتروسین AS-48 روترسین 6 شاخص این زیرکلاس هستند.

2.3 کلاس III

این کلاس باکتریوسین‌های ترمولابیل را گردآوری می‌کند که فعالیت و ساختار پروتئینی پیچیده‌ای دارند. مکانیزم فعالیت آنها با سایر باکتریوسین‌ها متفاوت است. این مولکول‌ها باعث تسریع اضمحلال دیواره سلول میکروارگانیزم‌ها می‌شوند. بخش N ترمینال آنها همولوگ اندوپپتیدی است که در سنتز دیواره سلول مشارکت می‌کند. درحالی‌که C-terminal مسئول شناسایی سلول هدف است.

3. نحوه عمل و ساختار

باکتریوسین‌ها معمولا به عنوان پری پپتیدهای غیرفعال عمل می‌کنند و یک توالی N-terminal دارند. این پیش‌ماده‌ها طی رشد تصاعدی به سطح سلول منتقل می‌شوند و بطور آنزیمی به فرم فعال تبدیل می‌شود. حامل‌ها دارای N-terminal پپتیدی هستند که قطع پپتید را هدایت می‌کنند مانند بخشی که مسئول هیدرولیزATP و تامین انرژی است. برای کلاس II پروتئین‌های فرعی برای تسهیل انتقال غشا و یا قطع پپتیدها استفاده می‌شوند. سیستم تولید باکتریوسین‌ها را در ترکیب با 3 جزء تنظیم می‌کند: یک پپتید القا کننده (یا فاکتور فعال‌کننده فرومون)، هیستیدین کیناز غشایی (پذیرنده فرومون) و یک تنظیم کننده پاسخ. پپتید القا کننده در سطح پایین در ریبوزوم القا می‌شود که در محیط بیرون بوسیله یک حامل برش داده می‌شود. وقتی این ترکیب به غلظت آستانه می‌رسد، کینازهای درون غشایی فعال می‌شوند و باعث اوتوفسفریلاسیون هیستیدین خواهند شد و بنابراین فسفات به پروتئین تنظیم کننده پاسخ منتقل میشود. تنظیم کننده فسفوریلاسیون رونوشت‌برداری باکتریوسین و همچنینی ایجاد سیستم تنظیمی و آغاز فیدبک مثبت را فعال میکند. تنظیم تولید لانتیبیوتیکها مانند لیزین و سابتیلین به وسیله باکتریوسین انجام میشود که به عنوان فرومونی القاکننده در سطوح بالا عمل میکند. مکانیزم ایمنی باکتریوسین تولید شده توسط باکتریها باعث ایجاد تمایز بین محصولات باکتریوسین تولید شده توسط خود با سایر میکروارگانیزمها میشود. حفاظت قادر است یک پروتئین خاص و یا

سیستم حمل و نقل افزایش یابد. مکانیزمی که در آن این مولکولها اینچنین فعالیت میکنند، از طریق دزدیدن پروتئینهای ساختاری یا ترکیبات آنتاگونیستی برای پذیرنده باکتریوسین امکان پذیر است.

3.1 فاکتورهای تاثیر گذار در کارایی باکتریوسین

فعالیت باکتریوسینهایی که بوسیله LAB های مختلف تولید شده اند یکسان نیست و به ترکیبات شیمیایی و فیزیکی غذا بستگی دارند. این موضوع عمدتا به PH بستگی داشته و بوسیله باکتریوسینهای متصل به ترکیبات غذایی کاهش می یابد که جذب سلول یا پروتئینها مشده و باعث فعالیت پروتئیازها و سایر آنزیمها میشوند. ارتباط بین تجزیه نیسین و میزان پروتولایسین در خامه پاستوریزه بوسیله Griffths, and ,Phillips Muir (1983) کشف شد. Buyong, Kok, and Luchansky (1998) کاهش فعالیت پدیوسین را از 64000 تا U/g2000 پس از 6 ماه پنیر با فعالیت پروتئاز و پپتیدها را گزارش کردند. غلظتهای معین nacl میتواند باعث کاهش رشد LAB و درنتیجه علی رغم محافظت از باکتری‌های هدف مانند L. monocytogenes در محل فعال خود باعث تولید باکتریوسین ها شود. Sarantinopoulos et al. (2002) کاهش در فعالیت باکتریوسین و سرعت رشد E. faecium FAIR-E 198 را پس از افزودن 2% NACL به MRS گزارش کردند. Nilsen, Nes, and Holo (1998) این حوادث را مداخله NACL در تولید فاکتور های متصل به پذیرنده گزارش کردند.

جدای از جذب شدن بوسیله اجزای چوب، باکتریوسینها ممکن است اثرات نامطلوبی بر فرآوری و انبارداری مانند PH و دمای محصولات داشته باشند. بر اساس گزارشات Nasis, Galiotou, ,Drosinos, Mataragas and Metaxopoulos، pH مطلوب برای تولید باکتریوسین (5.5) متناسب با رشد میکروبی (6.5) نیست. به دلیل پایداری بالای آنها تحت شرایط اسیدی، فعالیت نیسین هنگام استفاده در غذاهای اسیدی افزایش می یابد. Leroy and De Vuyst (1999) گزارش کردند که فعالیت باکتریوسین با افزایش دمای حاصل از افزایش دمای پروتئاز کاهش می‌یابد.

کارایی بازدارندگی به سطح آلودگی غذا بوسیله ارگانیزم‌های هدف بستگی دارد. اگر آلودگی اولیه بسیار بالا باشد، فعالیت باکتریوسین پایین است و قادر به جلوگیری از پیشرفت میکروارگانیزمهای آلوده کننده نیست. ریلا و

همکاران (2004) فعالیت 729 Lc. lactis subsp. lactis IPLA را در دو غلظت متفاوت، بخصوص 1.8×104 و 7.2×106را برعلیه S. aureusبررسی کردند: پس از گذشت 24 ساعت S. aureus در نمونه ها قابل شناسایی نبود؛ در حالی‌که بقیه موارد مقادیر بالای آن را نشان دادند.

4. روش‌های بیوتکنولوژی

مزایای قابل‌توجهی برای بکار بستن برش‌های پیشرفته در مهندسی زیستی جهت پیشرفت در کشف پپتیدهای قدیمی، رونوشت‌برداری و تولید وجود دارد که به دلیل ماهیت ژن‌های کد شده باکتریوسین‌ها هستند. یکی از بزرگترین مزیت‌های مهندسی زیستی در زمینه لانتیبیوتیک مشارکت در تولید سویه‌هایی است که مقادیر بالایی از پپتیدهای لانتیبیوتیک تولید می‌کنند. استراتژی دیگر جهت بهبود استرین‌های تولید کننده لانتیبیوتیک، اتصال چندین باکتریوسین بزرگ کد کننده پلازمید به یک استرین تنها است، در نتیجه باعث می‌شوند که باکتریوسین بطور موثرتری اهداف نامطلوب را نسبت به انواع وحشی از بین ببرد. همچنین این امکان وجود دارد که این هدف از طریق ازدیاد و تکثیر ژنهای کد کننده لانتیبیوتیک از طریق وکتورها و محصولات ناهمگون در سایر استرین‌ها حاصل شود. چنین هدفهایی جهت بهبود تولید لاکتینین 3147 توسط میزبان *Enterococcus* استفاده می‌شوند. مهندسی ژنتیک پپتیدهای موجود می‌تواند باعث ایجاد لانتیبیوتیک‌هایی با قدرت بهبودیافته و یا مناسب جهت کاربردهای خاص شود. تعدادی از مطالعات نتایج بهتری از ساختار/عملکرد مرتبط با لانتیبیوتیک‌های خاص داشتند و نشان دادند که تعداد قابل ملاحظه‌ای از نیسین‌ها و پپتیدهای مرتبط در میان منطقه مربوطه بوده که نتیج بدست آمده را در جهش یافته ها همراه با فعالیت موتاسیون II مجزا کرده است یا اینکه نیسین فعالیت نیسین Z را بهبود میبخشد یا حتی پایداری آنرا در دمای بالا یا تحت شرایط خنثی یا اسیدی افزایش می دهد.

همچنین امکان تغییر قابل توجه پپتیدهای لانتیبیوتیکی و غیرلانتیبیوتیکی با تغییر در معرفی تغییرات پس از ترجمه جدید از راه استفاده از آنزیم‌های خاص وجود دارد. برای نمونه سیکلاز نیسین (NisC) برای حلقوی شدن و محافظت از پپتیدهای غیرلانتیبیوتیک و پروتئازها استفاده می‌شود، این خاصیتی است که در طراحی

دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد، درحالی‌که دهیدراتاز نیسین (NisB) برای تولید زیرواحدهای دهیدرو از پل‌های تیواتری به پپتیدهای مختلف راحت‌تر ایجاد می‌شود.

بر اساس مطالعات Mills, Stanton, Hill, and Ross (2011) مهندسی ژنتیک باکتریوسین‌ها به لانتیبیوتیک‌ها محدود نمی‌شود. تلاشهای زیادی در زیرکلاس IIA باکتریوسین‌ها برای تعیین رابطه ساختار-عملکرد انجام شده است. با توجه به انواع مختلف تولید شده در این گونه در زمینه آکادمیک مورد استفاده قرار می‌گیرند که هیچ کدام از آنها افزایش فعالیت میکروارگانیزم‌های مختلف را نشان نمی‌دهند.

4.1 کاربرد در صنایع غذایی

محصولات غذایی می‌توانند با افزودنی‌های خارجی مکمل سازی شوند که باکتریوسین‌ها آنها را تولید می‌کنند و از طریق کشت سویه‌های تخمیر کننده صنعتی توسط بازیابی کافی بدست می آید. باکتریوسینها میتوانند بصورت نیمه خالص شده یا خالص‌شده اضافه شوند که نیازمند تاییدیه‌هایی برای حفاظت قانونی هستند. بنابراین نیسین و پدیوسین PA-1 باکتریوسینهایی در جهت حفاظت مواد غذایی هستند. بسیاری از مطالعات بر فعالیت باکتریوسین‌ها در شرایط آزمایشگاه یا در سیستم مواد غذایی بر روی خالص سازی کامل یا نیمه خالص شده انجام شده است اما در اغلب موارد غلظت کم باکتریوسین مشاهده شده است که تلاشهای زیادی هم در این زمینه انجام شده است.

مکمل‌های مواد غذایی می‌توانند بوسیله افزودن باکتریوسین‌های حاصل از کشت استرین‌های تولید شده در مواد غذایی (مانند شیر و کشک) استفاده شوند. نتایج بدست آمده میتواند به عنوان یک افزودنی غذایی یا جزیی از دیدگاه قانونی در نظر گرفته شود، زیرا برخی از اجزای آن نقش شناخته شده است در مواد غذایی دارند (مانند افزایش در میزان پروتئین). این ترکیبات دارای متابولیتهای آنتی میکروبی (مانند LA) و باکتریوسین‌ها هستند که مانند محافظهای زیستی عمل می‌کنند. سایر مواد ساخته شده از شیر علاوه بر غلظت‌های ——————————2341 ALTA یا Microgard مانند لاکتیسین 3147 و واریاسین وجود دارند. تولید خارج سلولی باکتریوسین میتواند به شکل ترکیبات غیر قابل حرکت تولید شود که در آن

باکتریوسین‌های نیمه تخلیص شده به یک حامل متصل هستند. حامل به عنوان یک محافظ و پخش کننده باکتریوسین‌های تغلیظ شده در غذا عمل می‌کند و تامین مداوم وابسته به شیب از باکتریوسین‌ها را تضمین می‌کند. حامل هم ممکن است از باکتریوسین در برابر غیرفعالسازی واکنش اجزای غذا و غیرفعالسازی آنزیمی محافظت کند. علاوه بر این، استفاده از مولکول‌های باکتریوسین در سطح غذا نیازمند مقادیر کمتر باکتریوسین است (در مقایسه با کاربرد تمام حجم‌های مواد غذایی) و موجب کاهش هزینه فرآوری می‌شود. در بسیاری از موارد تهیه باکتریوسین‌های غیرمتحرک در سطح موادغذایی فرآوری شده استفاده می‌شود که موجب اجتناب از آلودگی پس از فراوری و پاکسازی سطح از باکتریهای ناخواسته میشود. پیشرفتهای اخیر در این زمینه در باکتریوسین‌های غیرمتحرک در توسعه پوشش‌های ضد میکروبی انجام شده است. تولید درون آزمایشگاهی باکتریوسین‌ها مزایای زیادی نسبت به تولید خارجی دارد هم از نظر جنبه های قانونی و هم مالی. کاهش هزینه های حفاظت زیستی بسیار جالب توجه است بخصوص برای کارخانجات کوچک و کشورهای درحال توسعه که امنیت غذایی موضوع مهمی تلقی می‌شود. مطالعات بیشماری نشان‌دهنده کارایی این ترکیبات در حفاظت زیستی مواد غذایی هستند همانطور که در جدول 2 نشان داده شده است. مطالعات زیادی بر انتخاب و توسعه کشت باکتریوسینها در مواد غذایی تمرکز دارند مانند ممانعت از فساد و باکتریهای پاتوژنی طی دوره ماندگاری غذاهای تخمیر نشدنی. کشت حفاظتی ممکن است موجب رشد و تولید باکتریوسینها طی نگهداری در یخچال مواد غذایی شود که تاثیر بر ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و ارگانولیپیک آن طی شرایط دمایی بالا ندارد و ممکن است حتی به عنوان یک فاسد کننده غالب عمل کرده و باعث شود باکتریهای پاتوژنی رشد نکنند و این امر باعث عدم تداوم فساد مواد غذایی می‌شود.

4.2 استفاده در صنعت داروسازی

با فراهم شدن ابزارهای موثر و کارآمد در ذخیره دارو اکثر شرکتهای داروسازی تولید داروهای آنتی میکروبی خود را محدود کرده‌اند به طوری که به نظر میرسد نیازهای کمی به ترکیبات دارویی جدید داشته باشند. مقاومت باکتریایی به مواد آنتی‌میکروبی درست پس از فراگیر شدن کاربرد آنها مشاهده شد. پس از آن سطوح مقاومت ادامه پیدا کرد تا بطور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یابد. تا اینکه در سال 2000 سازمان سلامت جهانی هشدار داد که

بیماریهای عفونی ناشی از سطوح بالای مقاومت به پاتوژنها غیر قابل درمان شده اند. در ابتدا مقاومت به آنتی بیوتیک در بیمارستان مشاهده شد که استفاده از آنتی بیوتیکها بسیار شدید بود. تقریبا یک سوم همه بیماران موجود در بیمارستان حداقل نیمی از میزان آنتی بیوتیک لازم را دریافت کردند.

در راستای این مشکل، بیشتر آنتی بیوتیک‌های محدود شده به ظهور سریع پاتوژن‌های دارای مقاومت چندگانه ارتباط داشتند. تهدید رو به رشد مقاومت به آنتی بیوتیک در نتیجه استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در تولید مواد غذایی و کشاورزی بوده است. در صنعت کشاورزی استفاده از آنتی بیوتیکها در کنترل بیماری، عوامل پروفیلاکتیک و ارتقاء رشد است که ارتباط قابل توجهی با بروز مقاومت باکتریهای بیماریزا در حیوانات و گیاهان دارد. علاوه براین باکتری‌های استخراج شده از حیوانات در محیط‌های غیرمرتبط با مدیریتهای بیمارستانی یا کشاورزی سطوح بالای مقاومت به آنتی‌بیوتیک را نشان دادند. از طرفی این احتمال وجود دارد که مزایای استفاده از آنتی بیوتیک‌ها به محدودیت‌های فراهم بودن دارو ها و تهدید باکتری‌های با مقاومت چندگانه دامن زده است. تنها اخیرا هشدارهای این مشکل موجب افزایش تلاش‌های محققان جهت بدست آوردن جایگزینی برای منابع محدود آنتی‌بیوتیکی شده است. آنتی‌باکتریال‌های مختلف و جدید می‌توانند شامل باکتریوفاژها، باکتری‌های پروبیوتیک و پپتیدهای ضدمیکروبی و باکتریوسین‌ها باشند. به منظور انجام مطلوب این فعالیت‌ها محققان از روش‌های مهندسی ژنتیک یا شیمی استفاده می‌کنند. مثالهایی از برخی از باکتریوسینها و کاربرد آنها در داروسازی در جدول 3 ارائه شدده است.

استفاده از میکروسین‌ها جایگزین مناسبی برای کنترل باکتریهای گرم منفی است. مانند باکتریوسین‌های مشابه پدیوسین، میکروسین‌های متعلق به کلاس IIa مانند میکروسین v پلی پپتیدهای خطی هستند و کنارزدن پپتیدهای راهنما یک تغییر پس از ترجمه منحصر بفرد است که قبل از ترشح بوسیله سلول انجام می‌شود. سه پروتئین مختلف ممکن است به عنوان یک پذیرنده ویژه برای میکروسین‌های خطی عمل کنند که جزء fo در ساختمان ATP سنتتاز غشا، SdaC و مانوز پرمئاز هستند و به ترتیب توسط MccH47, و MccE492 مورد استفاده قرار میگیرند. بدلیل ساختار پوشیده شده باکتریهای گرم منفی یک مرحله اضافی برای کلاس IIa میکروسینها مورد نیاز است. به این معنی که سیستم انتقال OM برای این پپتیدها استفاده می‌شود تا به

پذیرنده غشای سلولی برسد. اینتروسین CRL35 یک باکتریوسین شبه پدیوسین است که از پنیرهای آرژانتینی استخراج شده است، دارای پتانسیل فعالیت آنتی‌لستریال است؛ اما در برابر باکتری گرم منفی غیرفعال است. به عبارت دیگر میکروسین v که قبلا به عنوان کولیسین v شناخته می‌شد، در برابر باکتریهای گرم منفی فعال است. به منظور بدست آوردن یک پپتید با طیف آنتی میکروبی وسیع‌تر Acuña, Picariello, Sesma, Morero و Bellomio (2012) بر PCR آسیمتری تمرکز کردند که برای ژنهای کد کننده اینتروسین CRL35 و میکروسین V مورد نیاز است و munA و cvaC نام دارند. هیبرید باکتریوسین استخراج شده از *E.coli*، Ent35eMccV نام دارد. که نشان‌دهنده فعالیت بازدارنده در برابر اینتروهموروجیک E. coli, L. monocytogenes و سایر عوامل بیماریزای گرم مثبت و باکتریهای گرم منفی است.

5. تفاوتهای بین باکتریوسین‌ها و آنتی بیوتیک‌ها

در مقایسه با استفاده‌های رایج آنتی بیوتیک‌ها، باکتریوسین‌ها طبیعی‌تر هستند و در بسیاری از مواد غذایی خوراکی از زمان گذشته وجود داشته‌اند. باکتریوسین‌ها بوسیله آنزیم‌هایی مانند تریپسین و پپسین که در معده وجود دارند؛ غیرفعال می‌شوند و بنابراین میکروبیوتای مواد خوراکی تغییر نمی‌کند. اگر باکتریوسین‌ها را به عنوان آنتی‌بیوتیک در نظر بگیریم؛ نمیتوان آنها را در غذای انسان استفاده کرد زیرا استفاده از آنتی بیوتیکها در غذا ممنوع است. نیسین تنها باکتریوسینی است که فائو از آن به عنوان GRAS (سالم) یاد می‌کند و می‌تواند در افزودنی‌های غذایی در بازدارندگی پس جوانه زنی اسپور و تشکیل توکسین توسط *C.botulinum* در پنیر پاستوریزه مورد استفاده قرار بگیرد. استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در غذای حیوان اولین بار در سال 1951 در اداره غذا و داروی آمریکا رایج شد که امروزه فهرستی از تولیدات تایید شده خود را منتشر کرد. طی سالهای گذشته بخصوص سالهای اخیر استراتژیهایی برای بهبود سلامت حیوانات، بهره وری و سلامت غذاهای میکروبی اعمال شد که دربرگیرنده آنتی بیوتیکهای کشف شده مانند پروبیوتیکها و باکتریوسینها نبود.

آنتی بیوتیکها و باکتریوسینها مکانیزمهای عمل متفاوتی دارند. زمانی که نیسین با برخی از آنتی بیوتیک‌ها ترکیب می‌شود ممکن است اثرات سینرژیستی آنتی میکروبی مشاهده شود. مکانیزم مقاومت به نیسین و آنتی بیوتیکها متفاوت است. سلولهای مقاوم به آنتی بیوتیک به نیسین حساس هستند و سلولهای مقاوم به نیسین نیز

به آنتی بیوتیکها. اخیرا میکروکپسوله کردن نیسین در نانوویزیکولهای لسیتین سویا نیمه خالص‌شده نشاندهنده تاثیر نیسین در مهار رشد L. monocytogenes در سطح و سراسر شیر در دمای پایین طی 14 روز است. Naghmouchi, Le Lay, Baah و Drider (2012) اثرات سینرژیست باکتریوسین‌ها و آنتی بیوتیک‌ها را روی سویه های حساس و مقاوم بررسی کردند. بخصوص یک تاثیر سینرژیست در برابر سودوموناس فلوروسنت مشاهده شد که 90 درصدترکیبات کلاس I و زیرکلاس IIa باکتریوسینها دارای آنتی بیوتیک بودند و 60 درصد ترکیبات کولیستین نیز دارای آنتی بیوتیک بودند. بنابراین در آینده تلفیق آنتی بیوتیکها با پپتیدهای آنتی‌میکروبی منجر به کاهش استفاده از آنتی بیوتیکها در پزشکی شده و میتواند به جلوگیری از ظهور باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیکها کمک کند.

جدول 2. استفاده از باکتریوسین‌ها در حفاظت زیستی از غذاها

Bacteriocin	Culture producer	Target microorganism	Food	Reduction (log CFU g^{-1})	References
Nisin	*Lactococcus lactis*	*Brochothrix thermosphacta*	Pork	3.5	Nattress, Yost, & Baker, 2001
Nisin	*L. lactis*	*Listeria monocytogenes*	Fermented milk	6.0	Benkerroum et al. (2002)
AcH Pediocin	*Lactobacillus plantarum*	*L. monocytogenes*	Cheese	1.0–2.0	Loessner et al., 2003
Enterocin	*Enterococcus faecium*	*L. monocytogenes*	Milk	2.0	Elotmani, Revol-Junelles, Assobhei, & Milliére, 2002
Enterocin	*Enterococcus faecalis*	*Staphylococcus aureus*	Sausage	5.3	Ananou, Maqueda, Martínéz-Bueno, Gálvéz, & Valdivia, 2005
Nisin Z	*Lactococcus lactis lactis*	*S. aureus*	*Afuega'l pitu* cheese	2.0	Rilla et al. (2004)

Source: Adapted from Nascimento, Moreno, and Kuaye (2008).

6. مقاومت به باکتریوسینها

مقاومت به موتانت‌های مشابه باکتریوسین‌ها ممکن است به تغییر در غشای دیواره سلول ارتباط داشته باشد مانند تغییر در پتانسیل الکتریکی، سیالیت، ترکیبات لیپید غشا و بارگیری یا ضخامت دیواره سلولی، و یا حتی ترکیبی از همه فاکتورهای فوق. بر اساس یافته های Van Schaik, Gahan و Hill (1999) این تغییرات ممکن است پس از قرار گرفتن سلول در معرض غلظت‌های باکتریوسینها مشاهده شود یا بخشی از پاسخ سازگار کننده به سایر تنش‌ها باشد. مکانیزم مقاومت سلولها به نیسین هنوز کاملا شناخته نشده است. بر اساس نظرات Abee (1995) مقاومت به L. monocytogenes به نیسین به تغییر در ترکیبات اسیدچرب غشای سلول، کاهش غلظت فسفولیپیدها و ممانعت از تشکیل حفره ارتباط دارد.

Gravesen, Axelsen, Silva, Hansen, and Knochel (2002 گزارش کردند که وقوع مقاومت بین 10-7 , 10-2 متفاوت است و بستگی به سویه L. monocytogenes دارد. مکانیزم مقاومت زیرکلاس IIa در باکتریوسین‌ها به نظر میرسد که با کاهش بیان مانور پرمئاز سیستم فسفوترانسفراز در ارتباط باشد.

جدول3. نمونه‌هایی از برخی باکتریوسین‌ها و کاربردهای دارویی آنها

Group of bacteriocins	Pharmaceutical applications
Lantibiotics	Blood pressure treatment Inflammations and allergies treatment Skin infections treatment Mastitis infections treatment Herpes treatment Dental carries treatment Peptic ulcer treatment
Colicins	Urinogenital infection Hemorrhagic colitis treatment Hemolytic uremic syndrome treatment
Microcins	Antibacterial agent Salmonellosis treatment

Source: Adapted from Gillor, Nigro, and Riley (2005).

7. سلامت زیستی

میکروارگانیزمهایی مانند *Lactobacillus spp*، *Lactococcus spp* و *Streptococcus thermophiles* در فراوری غذا و مصرف غذاهای حاوی آن یا متابولیتهای آن طی مدت طولانی استفاده میشوند. سلامت این میکروارگانیزمها مورد پرسش قرار نگرفته و پزارش اثرات زیان آور این باکتری به ندرت بوده است. برخی از LAB ارتباط آن را با آلودگیهای انسانی گزارش کرده اند مانند Lactobacillus fermentum استخراج شده از دریچه میترال، پانکراتیس توسط لاکتوباسیلوس استخراج شده از خون و مایع شکمی، عفونت ادراری توسط P. acidilactici, Lactobacillus gasseri and *Leuconostoc mesenteroides* و سایر بیماری‌های دیگر. علاوه بر این، برخی لاکتوباسیلوس‌ها با مقاومت به آنتی‌بیوتیکها مرتبطند اما بر اساس یافته هخای (Songisepp et al. (2012، L. plantarum Tensia ، به تتراسایکلین مقاوم نیست.

با این وجود مطالعات بیمارستانی زیادی انجام شده تا سلامت پروبیوتیکها در گروههای کوچک بخصوص بیماران آلوده به HIV ارزیابی شود. یافته های این مطالعات نشاندهنده امنیت پروبیوتیکها مصرف شده بوسیله این گروههاست.

8. استخراج

لاکتوباسیلوس‌ها تولید کننده های باکتریوسین هستند که برای رشد به مواد غذایی پیچیده‌ای نیاز دارند و این امر تنها باعث افزایش هزینه تولید نمی‌شود اما استخراج باکتریوسینها را دشوارتر می‌کند. چون باکتریوسین‌های حاصل از گروههای ناهمگون، جهت استخراج از پروتوکل‌های خاص نیازمند طراحی هر کدام است، ممکن توضیح دهد که چرا تنها تعدادی از باکتریوسینها مانند نیسین استخراج شده اند. سه روش عمده استخراج باکتریوسین‌های LAB بر اساس ساختار بیوشیمیایی آنها قابل تشخیص هستند. اولا، استخراج به وسیله روشهای رایج انجام می‌شود که بر اساس روش‌های آزمایشگاهی و کاربرد آمونیوم سولفات، تبادل یونی، واکنشهای هیدروفوبی، جداسازی روی ژل و کروماتوگرافی مایع با فشار بالا است. ثانیا، یک پروتوکل سه مرحله ای اجرا می‌شود که شامل 1) رسوب آمونیوم سولفات 2)کلروفورم/متانول استخراج/رسوب و 3) فاز ذخیره کروماتوگرافی مایع فشار بالا، مانند مراحل کروماتوگرافی. ثالثا، باکتریوسین‌ها می‌توانند از خلال یک واحد منحصربفرد استخراج شوند، یعنی بستر جذب گسترده، با استفاده از ژل هیدروفوبی پس از به حداکثر رساندن باکتریوسین‌های فعال که از طریق تنظیم PH مایع تخمیر تیتر می‌شوند.

دو روش اخیر سریعتر و موفقیت آمیزتر از روش اول هستند. باکتریوسین‌های مختلف با افزایش توان صنعتی شدن از آمیلووورین L استخراج شدند (تولید شده توسط Lactobacillus amylovorus DCE 471 و متعلق به کلاس II)، اینتروسین‌های مختلف (تولید شده توسط سویه های E. faecium RZS C5, RZS C13 و FAIR-E 406) و آنتی‌بیوتیک macedocin (تولید شده توسط Streptococcus macedonicus ACA-DC198). برای مثال نیسین، با استفاده از کروماتوگرافی immunoaffinity، یونهای تبادلی در بستر گسترده و فاز ذخیره کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا خالص سازی می‌شود. با این وجود این روش‌ها موجب افزایش قیمت نیسین می‌شود که بیشترین باکتریوسین مصرفی در جهان است.

8. نتیجه‌گیری

باکتریوسین‌ها دارای پتانسیل پوشش دادن در زمینه های مختلفی نظیر صنایع غذایی و هم پزشکی هستند. اینها گروههای متنوعی از پروتئینها/پپتیدهای آنتی میکروبی هستند. بنابراین انتظار می‌رود در باکتریها و تحت شرایط محیطی مختلف، متفاوت عمل کنند. چون تاثیر باکتریها بوسیله شرایط محیطی تحمیل می‌شود، نیاز به تعیین دقیق شرایط موثر کاربرد باکتریوسین‌های ویژه است. برای استفاده از باکتریوسین‌های استخراج شده، هزینه‌های وارده میتوانند محدود کننده باشند. تولید نه همه اما باکتریوسین‌های کوچک تنها در صورت کشت طبیعی یا ارگانیزمهای تحت مهندسی ژنتیک مشاهده می‌شود. سرمایه‌گذاری بر روی تحقیق و توسعه آن میتواند گسترده باشد و پیش بینی میزان تقاضای بازار دشوار است، اما در حقیقت نیسین دارای کاربردهای تجاری است که از جنبه اقتصادی یک مانع غیرقابل عبور بر سر راه کاربرد باکتریوسینها است.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی