سنتز پپتیدهای ضد میکروبی در باکتری ها

مسعود حمیدی[1]، سید داوود موسوی نسب[2]، نایبعلی احمدی[3]*، غلام بساطی[4]، غلامرضا اولاد[5]، جعفر سلیمیان[5]،محسن زرگر[6]

1)باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان

2)گروه ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

3)مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

4) گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

5) مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)

6)گروه میکروبشناسی ،دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی قم

تاریخ دریافت: **تاریخ پذیرش:**

چکیده

پپتیدهای ضد میکروبی (Antimicrobial Peptides) که به اختصارAMP بیان می شوند، یکی از گروههای متنوع ترکیبات ضد میکروبی هستند که به دلیل پیدایش مقاومت باکتریهای پاتوژن به آنتی بیوتیکهای رایج مورد توجه زیادی قرار گرفته اند. این مولکولهای شبه پروتئینی اغلب حاوی اسیدآمینه های تغییرشکل یافته و اصلاح شده ای هستند که در پلی پپتیدهای ساخته شده توسط ریبوزومها یافت نمی شوند. این ترکیبات شامل دو گروه باکتریوسینها و آنتی بیوتیکهای پپتیدی هستند که اساس این طبقه بندی بر پایه مکانیسم بیوسنتز آنهاست. باکتریوسینها ترکیبات سنتز شده توسط ریبوزومها هستند که در باکتریها تولید شده و علیه باکتریهایی که خویشاوندی نزدیکی با باکتری تولید کننده دارند فعال هستند. پپتیدهای آنتی بیوتیکی به وسیله ریبوزومها سنتز نشده و در عوض طی واکنشهای فشرده سازی مرحله به مرحله و پیچیده ای که از سنتازهای پپتیدی غیر ریبوزومی بزرگ (NRPS) بهره می گیرند ساخته می شوند. مانع اصلی در استفاده از AMP ها به عنوان آنتی بیوتیک توانایی آنها در لیز سلولهای یوکاریوتی است. برای به کار بردن آنها به عنوان عوامل دارویی، باید در عین داشتن فعالیت ضد میکروبی بالا، فعالیت همولیزی پایین داشته باشند. موانع دیگر مانند سایر سمیتها، هزینه بالای ساخت، فراهمی زیستی پایین و... نیز باید در نظر گرفته شود. سیستمهای متعدد میزبان- ناقل به منظور تولید AMP ها با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب استفاده شده است که E.coli بیشترین استفاده را داشته است. بنابراین پتانسیل بالایی در زمینهٔ استفاده از پپتیدهای ضد میکروبی وجود دارد و تحقیقات بیشتری در این زمینه می تواند به نتایج بسیار خوبی منجر شود که اثرات قابل توجهی در صنایع غذایی و پزشکی داشته باشد.

واژه های کلیدی: پپتید، ضد میکروبی، باکتری

***نویسنده مسئول:** مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

Email: Nadri-h@Yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

مقدمه

به منظور بقا در محیط طبیعی و رقابت بر سر منابع با سایر میکروارگانیسمها، باکتریها ترکیبات ضد میکروبی ای تولید می کنند که منجر به مهار یا کشته شدن سوشهای رقیب می شوند. به نظر می رسد که تمام باکتریها توان تولید ترکیبات ضد میکروبی را دارند و ما تنها باید گونه های تولید کنندۀ نوع خاصی از این ترکیبات و شرایط رشد باکتری را برای تولید آنها شناسایی کنیم. پپتیدهای ضد میکروبی (Antimicrobial Peptides) که به اختصارAMP بیان می شوند، تنها یکی از این گروههای متنوع ترکیبات ضد میکروبی هستند. این مولکولهای شبه پروتئینی اغلب حاوی اسیدآمینه های تغییرشکل یافته و اصلاح شده ای هستند که در پلی پپتیدهای ساخته شده توسط ریبوزومها یافت نمی شوند. این ترکیبات به طور مشخص شامل دو گروه باکتریوسینها و آنتی بیوتیکهای پپتیدی هستند که اساس این طبقه بندی بر پایه مکانیسم بیوسنتز آنهاست. باکتریوسینها ترکیبات سنتز شده توسط ریبوزومها هستند که در باکتریها تولید شده و علیه باکتریهایی که خویشاوندی نزدیکی با باکتری تولید کننده دارند فعال هستند. اکثر باکتریوسینها حاوی 20 تا 60 اسید آمینه بوده که دچار اصلاحات پس ترجمه ای شده و یا بدون تغییر باقی مانده اند.

اکثر باکتریوسینها با خاصیت آبدوستی یا آبگریزی غشای سلولی را هدف می گیرند در حالی که برخی از آنها بیوسنتز پلیمرهای زیستی و یا فعالیت آنزیمها را نیز مهار می کنند و تاثیرات مهاری خود را اعمال می نمایند.

پپتیدهای آنتی بیوتیکی به وسیله ریبوزومها سنتز نشده و در عوض طی واکنشهای فشرده سازی مرحله به مرحله و پیچیده ای که از سنتتازهای پپتیدی غیر ریبوزومی بزرگ (NRPS) بهره می گیرند ساخته می شوند. این ترکیبات اغلب حاوی اسیدآمینه های غیر پروتئینی که شامل اسید آمینه های نوع D، اسیدهای هیدروکسی و یا دیگر ترکیبات غیر معمول هستند و محدوده وسیعی از مکانیسمهای مهاری و عملکردی را نشان می دهند تشکیل شده اند(1).

AMP ها بر اساس ساختار سوم خود به زیر گروه هایی مانند پپتیدهای خطی، پپتیدهای دارای مارپیچ α، پپتیدهای دارای صفحات β و پپتیدهای با توالی غنی از یک نوع اسید آمینه خاص طبقه بندی می شوند. مکانیسم فعالیت آنها از سدهای فیزیکی بودن تا پاسخهای ایمنی سلولی علیه میکرو ارگانیسم ها متغیر است. تاکنون بیش از 100 AMP متفاوت در مهره داران شناسایی شده است. بیشتر این پپتیدها از نظر ساختاری مشابه یکدیگر بوده، وزن مولکولی آنها معمولاً بین 1000 تا 5000 دالتون می باشد (2).

باکتریوسینها در مقابل حرارت، pH پایین، حلالهای آلی ضعیف، سرما و یخ، نمکها و آنزیمها مقاوم بوده و در نتیجه قابل کاربرد در سیستم های حفاظت از غذا می باشند. جدا سازی و خالص سازی این ترکیبات لازم و ضروری است تا مکانیسم دقیق فعالیت مهاری آنها بر روی باکتریهای فاسد کنندۀ غذا و باکتریهای منتقل شونده با غذاها مشخص شود (3).

باکتریوسینهای باکتریهای گرم مثبت:

گونه های متعددی از باکتریهای گرم مثبت به خاطر حضور طبیعی در بسیاری از انواع غذاها به عنوان ایمن یا در اصطلاح GRAS در نظر گرفته می شوند. باکتریهای گرم مثبت انواعی از باکتریوسینها را تولید می کنند که مشخصات بیشتر آنها از نظر بیوشیمیایی و ژنتیکی تعیین شده است. باکتریوسینها به طور کلی نسبت به پروتئازهای روده انسان حساس هستند که این ویژگی آنها را به منبع با ارزشی برای نگهداری غذا تبدیل می کند. باکتریوسینهایی که از دو نوع باکتری ایمن یعنی لاکتوباسیلها (LAB) و پروپیونی باکتریها گرفته شده اند به خاطر کاربردهای بالقوه آنها در صنعت غذایی به طور گسترده ای مطالعه شده اند.

باکتریوسینهایی که توسط لاکتوباسیلها تولید می شوند بر اساس مشخصات ساختمانی و بیوشیمیایی به 4 گروه تقسیم بندی می گردند که این تقسیم بندی برای باکتریوسینهایی که از باکتریهای دیگر گرفته می شوند می تواند به کار رود:

1-لانتی بیوتیکها: پپتیدهای فعال و کوچک علیه غشا هستند که حاوی اسید آمینه غیر معمول لانتیونین هستند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

2-پپتیدهای کوچک مقاوم به حرارت بدون لانتیونین و فعال علیه غشا.

3-پروتئینهای ناپایدار در برابر حرارت و بزرگ (با وزن مولکولی بیش از 30 کیلو دالتون).

4-باکتریوسینهای پیچیده.

1-لانتی بیوتیکها: بر اساس ویژگیهای ساختمانی و خواص عملکردی به سه گروه طبقه بندی می شوند:

الف) لانتی بیوتیکهای تیپ A که لانتی بیوتیکهای خطی یا شبه نایسین نیز نامیده می شوند مانند نایسین و Pep5 که ساختاری خطی داشته و حدود 34 اسید آمینه دارند. هدف اولیه آنها غشای سلولی است. نایسین (Nisin) اولین باکتریوسینی است که برای استفاده در صنعت غذایی در مقیاس تجاری تاییدیه گرفت و در سال 1928(سال کشف پنیسیلین) شناسایی شد.

ب) لانتی بیوتیکهای تیپ B مانند دورامایسینها که حاوی 19 اسید آمینه بوده و شکل حلقوی دارند.این تیپ فسفولیپازها را مهار میکنند.

ج) لانتی بیوتیکهای تیپ C مانند مرساسیدین (mersacidin) که ویژگیهای ساختاری ما بین تیپ Bو A دارند و بیوسنتز دیواره سلولی باکتریایی را مهار می کنند (1).

گروه 2: که حاوی هیچ نوع اسید آمینه اصلاح شده نیستند و خود به سه گروه تقسیم بندی می شوند(1).

گروه 3 : شامل helveticin J , lacticin A and B , acidophilucin A , caseincin 80، acidophilucin A و caseincin 80 می باشد. این ترکیبات به خاطر حساسیت آنها به حرارت برای نگهداری غذا مناسب نیستند(1).

گروه 4: پپتیدهای ضد میکروبی هستند که حاوی گروه های لیپیدی یا کربوهیدراتی هستند. از انواع آنها می توان به Leuconoans و Lactocin 27 اشاره کرد (1).

بایفیدوباکتریها، باکتریهای گرم مثبت، غیر متحرک، کاتالاز منفی و بی هوازی هستند که اسپور تشکیل نمی دهند. بایفیدیوباکتریها گروه قابل توجهی از باکتریهای کلون در بزرگسالان به حساب می آیند و اعضای این جنس قبلاً نشان داده شده که تأثیرات خوبی در سلامتی میزبان خود دارند. برخی سوشهای خاص بایفیدوباکتریوم قادرند موادی تولید کنند که با باکتریهای بیماریزا در اتصال به گیرنده های سلولهای اپیتلیال روده رقابت کرده و مانع از اتصال آنها می شوند. بایفیدوباکتریهای پروبیوتیک در درمان عفونتهای روده ای مفید هستند. اعضای LAB ها به طور گسترده ای مورد تحقیق قرار گرفته اند اما تنها تعداد محدودی از گزارشات مبنی تولید ترکیبات ضد میکروبی از بایفیدوباکتریها موجود است (3).

در حال حاضر هیچ باکتریوسینی از بایفیدوباکتریها کاربرد تجاری به عنوان نگهدارندۀ غذایی پیدا نکرده است و این موضوع برای بسیاری از باکتریوسین ها که از LAB ها گرفته شده نیز حقیقت دارد. مشخصات ژنتیکی و بیو شیمیایی بسیاری از باکتریوسینها مشخص شده است اما اکثر جنبه های این ترکیبات هنوز نامشخص است که نشان دهندۀ این است که چرا تا امروز تنها نایسین تنها باکتریوسین خالص سازی شده است که مجوز FDA را به عنوان نگهدارندۀ غذایی پیدا کرده است. اطلاعات سم شناسی تنها برای تعداد کمی از باکتریوسینها وجود دارد و در مورد باکتریوسینهای بایفیدو باکتریها این نوع اطلاعات اصلاً وجود دارد؛ اما تحقیقات و استفادۀ بلند مدت از آنها نشان میدهد که باکتریوسینها می توانند به طور قابل اطمینانی مصرف شوند. چند گونه از بایفیدوباکتریها متابولیتهایی مانند باکتریوسینها تولید می کنند که علیه برخی از باکتریهای بیماریزای منتقل شونده از طریق غذا مانند E.coli ، سالمونلا و دیگر پاتوژنهای تهدید کنندۀ سلامتی انسان مانند H.pylori خاصیت مهار کنندگی دارند. به منظور استفادۀ تجاری، تحقیقات بیشتری نیاز است تا اثرات سمی این ترکیبات در in vivo مشخص شده و تأییدیه های لازم را کسب کنند (3).

باکتریوسینهای باکتریهای گرم منفی و ترکیبات شبه باکتریوسین:

با اینکه واژه باکتریوسین معمولاً برای پپتیدهای ضد میکروبی که توسط ریبوزومها سنتز شده و در gr+ ها تولید می شود، به کار می رود، این واژه ظاهراً برای

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

ترکیبات مشابه که توسط -gr ها تولید می شود نیز استفاده می شود. تنوع باکتریوسینهای -gr مشابه باکتریوسینهای +gr بوده و کولیسین ها و میکروسینها بهترین مثالهای شناخته شده اند. از آنجا که این ترکیبات توسط -gr هایی تولید شده که به طور معمول با آلودگیهای دفعی در ارتباط هستند، به طور مستقیم برای نگهداری غذا قابل استفاده نیستند. با این حال مطالعات در زمینهٔ فعالیت، سنتز، اصلاحات پس ترجمه ای و مکانیسمهای تنظیمی پیوسته آنها نسبت به ترکیبات مشابه در +gr ها بیشتر و سریعتر صورت گرفته که می توانند به عنوان مدلهای خوبی برای مطالعه بسیاری از باکتریوسینهای +gr ها به کار روند. برای نمونه میکروسینها که از نظر ساختاری مشابه لانتی بیوتیکها هستند، بر خلاف آنها در آزمایشگاه سنتز شده اند.

میکروسینها: پپتیدهای ضد میکروبی ساخته شده توسط ریبوزومها بوده که وزن مولکولی پایین داشته و اکثراً توسط خانوادهٔ انترو باکتریاسه تولید می شوند. این ترکیبات مانند لانتی بیوتیکها دچار اصلاحات پس ترجمه ای پیشرفته ای می شوند. وزن مولکولی آنها معمولاً کمتر از 5 KDa است. در مقایسه با کولیسینها ، حساسیت کمتری نسبت به پروتئازها دارند. این مسئله شاید به خاطر طول کوتاه تر و اصلاحات اسید آمینه های آنها باشد. میکروسینها در اکثر موارد توسط پلاسمیدها کد می شوند. ژن های ساختاری که میکروسینهای C7 و C51 را کد می کنند هر کدام bp 21 طول دارند که احتمالاً کوتاه ترین توالی کد کننده را که تاکنون شناخته شده است، دارند. میکروسینها بر اساس الگوی تقاطع ایمنی به 7 گروه تقسیم بندی می شوند. ظاهراً، میکروسینهای داخل یک گروه، مکانیسم مهاری مشابه دارند. این مکانیسمها شامل مهار آنزیمهای متابولیک، همانند سازی DNA، ترجمه، انتقال اسید آمینه، بیو سنتز DNA، تقسیم سلولی و تشکیل غشای سلولی است.

کولیسینها: پلی پپتیدهای منفرد ساخته شده توسط ریبوزوم ها هستند که ابتداً توسط E.coli تولید شده و E.coli های حساس و گونه های نزدیک مانند شیگلا و سالمونلا را می کشد. تولید کولیسین کاملاً محدود به E.coli نبوده و چندین باکتری -gr مانند شیگلا بویدی (s.boydii) نیز توان تولید کولیسین ها را دارند. وزن مولکولی کولیسین ها بین 29 تا 89 کیلو دالتون است. در مقایسه با میکروسین ها، کولیسین ها به جزء حذف N- Met ترمینال دچار اصلاحات نمی شوند (1).

Microsin j25 می تواند سنتز ATP را در میتوکندری با تقویت تخریب ATP، مهار کند (4). حذف بار منفی گروه کربوکسیلی glu با جایگزینی آن با L-GLy در Microsin j25 و کربوکسیله کردن گروه ایمیدازول هیستیدین خاصیت ضد میکروبی Microcin را نسبت به نوع طبیعی علیه E.coli و سالمونلا به طور قابل توجهی کاهش می دهد. این دو جایگاه قطبی و باردار به عنوان ویژگیهای ساختمانی ضروری برای عملکرد میکروسین به حساب می آیند (5).

microcin j25 رونویسی در باکتریها را با مهار RNA پلیمراز در مرحلهٔ برداشت NTP یا اتصال NTP به RNA پلیمراز مهار می کند. Mcc j25 با اتصال به RNA pore پلیمراز و تخریب این کانال، رونویسی را مهار می کنند (6).

Microcin j55 دو هدف مستقل در داخل سلول دارد: RNA پلیمراز و زنجیرهٔ تنفسی. این پپتید تولید اکسیژنهای واکنش پذیر را در سلول تحریک کرده که موجب آسیب به زنجیرهٔ تنفسی می شود (7).

میکروسینها بر اساس برخی ویژگیها به دو گروه تقسیم می شوند: کلاس I شامل Mcc B17 C7، j25 ،D93 می باشد که مولکولهای کوچکی بوده (وزن مولکولی کمتر از 5KDa)، پس از ترجمه دچار اصلاحات زیادی شده و اهداف داخل سلولی اختصاصی دارند. کلاس II میکروسینها که شامل L24 ، H47 ، E492، Mccv می باشند که: 1) خصوصیات مشترک با باکتریوسینهای کلاس IIa باکتریهای +gr دارند. 2) وزن مولکولی آنها 10KDa-7 است. 3) فاقد اسید آمینه های اصلاح شده هستند. 4) پپتیدهای رهبر از نوع گلاسین دوتایی دارند. 5) ترشح آنها به وسیلهٔ سیستم ABC هدایت می شود. 6) فعالیت ضد میکروبی آنها در اثر واکنش با غشای باکتری است (8).

دیگر باکتریوسینهای باکتریهای گرم منفی:

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

یرسینیا پستیس (Y. pestis)، pesticin تولید می کند که یک مورامیداز است و از روی پلاسمید کد می شود. سودوموناس آئروژینوزا (P.aeruginosa) غالباً پیوسین های S1، S2 و AP 41 را کد می کند. این ترکیبات شبیه باکتریوسینهای شبه کولیسین E2 هستند که فعالیت نوکلئازی دارند. بیان Pyocin 41 در اثر تخریب DNA در حین مسیر RecA فعال می شود (1).

کاربردهای صنعتی پپتیدهای ضد میکروبی:

دو بخش مهم که نیاز به کنترل میکروبها می باشد صنایع غذایی و پزشکی می باشد. میکروبها در جنبه های متعددی در صنایع غذایی دخیل اند که هم جنبهٔ مثبت و هم منفی دارد. بیشتر باکتریهای مفید، به خصوص لاکتیک اسید باکتریها به منظور نگهداری و تغییر طعم محتوای غذاها استفاده می شوند. از طرف دیگر باکتریهای مفید که به طور طبیعی و یا در اثر آلودگی در غذاها یافت می شوند، با ایجاد فساد در غذاها یا بیماری در مصرف کنندگان اثرات منفی دارند. برای کنترل این اثرات منفی، عوامل ضد میکروبی در غذاها به عنوان افزودنی به منظور جلوگیری از فساد غذایی و افزایش ایمنی غذا به کار می روند. به لحاظ تاریخی این افزودنیها ترکیبات شیمیایی مانند نیتریتها، سولفیتها و اسیدهای آلی بوده اند؛ که این ترکیبات گاهی حساسیت زا بوده و می توانند خواص غذا را تغییر دهند و در کل اثر منفی بر روی مصرف کنندگان داشته باشند. امروزه جانشینهای متعددی برای آنها وجود دارد که بیشتر آنها از باکتریها و متابولیتهای آنها ساخته شده است. باکتریهای پروبیوتیک زنده، تخمیرهای باکتریهایی پروبیوتیک و متابولیتهای باکتریایی تخلیص شده کاربردهایی در صنعت غذایی دارند. در میان چنین محصولاتی پپتیدهای ضد میکروبی با داشتن فعالیت ضد میکروبی اختصاصی و حساس بودن نسبت به تجزیهٔ بدون آسیب آنها توسط آنزیمهای دستگاه گوارش انسان، به عنوان منبع بسیار با ارزش برای نگهدارنده های غذایی به حساب می آیند. دو نمونه از این ترکیبات، نایسین و پدیوسین به طور رایج امروزه استفاده می شوند. بیش از 50 کشور و منطقه تأییدیه ی استفاده از نایسین را به عنوان نگهدارندهٔ غذایی کسب کرده اند. در ایالات متحده، FDA این تأییدیه را برای پنیرهای فرآوری شده در سال 1989 صادر کرد. در زمینهٔ پزشکی، افزایش مداوم سوشهای باکتریایی دارای مقاومت به آنتی بیوتیکها نیاز روز افزون برای عوامل ضد میکروبی جدید را ایجاد کرده است (1).

شواهد نشان می دهد که پپتیدهای ضد میکروبی کاتیونیک بیشترین پتانسیل را به عنوان کلاس جدیدی از آنتی بیوتیکها دارا هستند. بزرگترین گروه پپتیدهای ضد میکروبی شامل پپتیدهایی هستند که در هنگام واکنش با میکرو ارگانیسم هدف به صورت α-هلیکس دو گانه (آمفی پاتیک) در می آیند(4). یک ویژگی مهم AMP ها احتمال پایین ایجاد مقاومت نسبت به آنها در میکروبهای هدف است، زیرا آنها به عنوان بخشی از پاسخهای ایمنی طبیعی تکامل یافته اند (2).

آنتی بیوتیکهای پپتیدی مانند اکتینو مایسین، گرامیسیدین، سورفاکتین و پلی میکسینها در صنعت پزشکی کاربرد دارند. برخی باکتریوسینها که استفادهٔ پزشکی دارند، دارای خاصیت ضد میکروبی در طبیعت نیستند. مثلاً Ancovenin دارای پتانسیل استفاده در درمان فشار خون بالاست؛ چرا که آنزیمهای تبدیل کنندهٔ آنژیوتانسین را مهار می کند. هم چنین Cinnamycin فعالیت ضد ویروسی علیه هرپس سیمپلکس تیپ I نشان می دهد (1). باکتریوسینها می توانند طیف فعالیت گسترده یا محدودی داشته باشند. باکتریوسینها با طیف گسترده به دلیل پتانسیل تجاری شدن احتمالاً گزینهٔ بهتری به عنوان آنتی بیوتیکهای جدید می- باشند؛ اما به دلیل مقاومت به آنتی بیوتیکهای با طیف وسیع در میان باکتریهای فلور بدن، نیاز به باکتریوسینهای با طیف باریک است (9).

مانع اصلی در استفاده از AMP ها به عنوان آنتی بیوتیک توانایی آنها در لیز سلولهای یوکاریوتی است. برای به کار بردن آنها به عنوان عوامل دارویی، باید در عین داشتن فعالیت ضد میکروبی بالا، فعالیت همولیزی پایین داشته باشند. غشای گلبولهای قرمز خون از فسفولیپیدهای خنثی و مقدار زیادی کلسترول تشکیل شده است، در حالی که دیوارهٔ سلولی باکتریها غنی از بار منفی است. مطالعات اخیر نشان داده است

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

که خاصیت آب گریزی بالا و آمفی پاتیکی بالا در ارتباط با فعالیت همولیزی است (10).

در کنار مزایای AMP ها هزینه بالای ساخت پپتیدهای ضد میکروبی نیازمند این است که مراحل کاری مؤثری راه اندازی شود. علاوه بر این، گسترهٔ انتخابی بودن این پپتیدها باید بهبود یابد در صورتی که دوزهای مصرف شده بدون فعالیت همولیزی و یا سایر سمیت ها در نظر گرفته شده باشد. روشهای موفقیت آمیز و اصلاح شده به منظور طراحی و یا شناسایی می تواند در رسیدن به این اهداف ما را یاری کند. به این منظور، روشهایی بر پایهٔ شناسایی موتیفهای نیمه حفاظت شده در میان AMP ها ارائه شده که ممکن است محدودیت های گفته شده در بالا را برطرف کند. در ابتدا روشهایی برای ساخت الیگونوکلئوتیدهایی طراحی شد که موتیفهای مورد نظر را تقلید کنند. این روش منجر به استفادهٔ مجدد پرایمر ها برای بسیاری از پپتیدها شده و هزینه را کاهش می دهد و امکان مطالعهٔ طرح استفادهٔ مشترک پرایمرها را می دهد. به علاوه، مشخص شد که ترجمهٔ پپتیدها با ترجمهٔ همزمان یک همتای متصل به آن تقویت می شود. در نهایت AMP می تواند با هضم توسط انتروکینازها از همتای خود رها شود. به علاوه، مقدار تولیدی با بهینه کردن طول همتای متصل به AMO به 3 برابر افزایش یافت. همتای مورد نظر به اندازهٔ کافی کوتاه شد تا در منابع لازم برای ترجمه صرفه جویی شود و از طرفی به اندازهٔ کافی بلند بود تا از پایداری آن نسبت به پروتئازها اطمینان حاصل شود. حلالیت محصول نهایی با انتخاب همتایی با حلالیت بالا که طول مناسب دارد انجام می شود. در نهایت مراحل خالص سازی به گونه ای طراحی می شود تا اطمینان حاصل شود ترجمه در آزمایشگاه تأثیری در میزان فعالیت ضد میکروبی طبیعی ندارد. به منظور طراحی AMP ها با استفاده از موتیفهای نیمه محافظت شده، بیش از 500 AMP طبیعی بررسی شد و موتیفهای حاصله در هم ادغام شدند تا توالیهای 20 اسید آمینه ای که در میان آنها حفظ شده اند حاصل شود (11).

به منظور کاربرد درمانی، تولید پپتیدهای ضد میکروبی کوچک به وسیلهٔ روش های DNA نوترکیب به عنوان یک چالش مورد بحث، مطرح است. E.coli رایج ترین میزبان برای بیان AMP هاست؛ به خاطر سرعت رشد بالا و سیستمهای بیانی آن که به خوبی مطالعه و بررسی شده است. با این حال، برخی مشکلات از قبیل محصول کم، تجزیهٔ پروتئولیتیک پروتئین هیبرید و سمیت محصول بیان شده بر روی میزبان در مورد آن مطرح است. روشهای مختلفی برای فائق آمدن بر این مشکلات ارائه شده است: استفاده از بیان هیبریدی، ساخت وکتورهای بیانی که حاوی ژنهای متصل شدهٔ متعدد هستند و یا اضافه کردن قطعهٔ آنیونی به منظور مقابله و خنثی شدن پپتید کاتیونی. بار مثبت AMP ها با جزء اسیدی می تواند خنثی شده و در نتیجه اثرات سمی بر روی سلولهای میزبان به طور قابل توجهی کاهش می یابد (12).

مطالعات بیورآکتوری مشخص ساخته که تولید آنتی بیوتیکها قویاً وابسته به مقیاس کار دارد و ارتباط مشخصی بین غلظت اکسیژن محلول، pH محیط، مصرف گلوکز، تمایز سلولی و تولید آنتی- بیوتیک وجود دارد. تولید حداکثر در عرض 30h با تنظیم pH محیط در گسترهٔ قلیایی به وسیلهٔ اضافه کردن کنترل شدهٔ NaoH (سود)، تنظیم مخزن هوا و تغییراتی در شکل و ساختار رآکتور می تواند حاصل شود (13).

روش سنتز پپتید در فاز جامد با اشکال مختلف امروزه برای سنتز AMP های طبیعی و نیز انواع جدید آنها استفاده می شود.-این روش نیاز به مواد شیمیایی مخاطره آمیز و پر هزینه دارد. در حالی که تکنولوژی DNA نو- ترکیب برای تولید انواع پروتئین های پروکاریوتی و یوکاریوتی به کار می رود (2).

کلون کردن پپتیدهای ضد میکروبی:

پپتیدهای ضد میکروبی به عنوان بخشی از سیستم ایمنی طبیعی در حیوانات و حشرات علیه باکتریها، قارچها و ویروسها فعال هستند. این پپتیدها در حال حاضر عمدتاً به وسیلهٔ استخراج آنها از ارگانیسم میزبان یا سنتز پپتید در فاز جامد تولید می شوند که هر دو روش گران بوده و محصول پایینی ایجاد می کنند. تکنولوژی DNA نوترکیب پنجرهٔ جدیدی برای تولید این ترکیبات به صورت ارزان و در مقادیر بالا با استفاده از سیستم های بیان در E.coli گشوده است. در مطالعه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

ای indolisidin و PGO تولید شدند. نتایج نشان داد مولتی مر کردن ژنهای AMP ها به عنوان وسیله ای به منظور کنترل سمیت پپتیدهای نوترکیب در in vivo بوده و میزان تولید را نسبت به حالت غیر مولتی مر بودن (ژن منفرد) افزایش می دهد (2).

ژنهای لازم برای تولید باکتریوسینهای فعال معمولاً در قالب اپرون وجود دارند. این ژنها می توانند بر روی کروموزوم، پلاسمید و یا ترانسپوزون قرار داشته باشند. به طور معمول ژنهای در ارتباط با باکتریوسینها کد کنندهٔ پپتیدهای ساختاری، پروتئینهایی که کمک به تشکیل فرم فعال می کنند، پروتئینهایی که در انتقال باکتریوسین از عرض غشاء دخالت دارند، پروتئینهای تنظیمی و پروتئینهایی که موجب ایمنی در میزبان تولید کننده می باشند. از آنجا که باکتریوسینها به وسیلهٔ یک ژن ساختاری کد می شوند، جایگاههای فعال و ارتباطات ساختاری-عملکردی آنها به راحتی با دستکاریهای ژنتیکی می تواند آزمایش شود. هم چنین تکنیکهای مولکولی امکان ساخت باکتریوسینهای مشابه با فعالیت افزایش یافته یا اختصاصیت تغییر یافته را می دهد که در مورد آنتی بیوتیکهای معمول، به دلیل تعداد زیاد ژنها و پیچیدگی دستکاری ژنتیکی در آنها، این امکان وجود ندارد (14).

سنتز پپتیدهای شیمیایی به طور گسترده ای در حال انجام است و غالباً محصولاتی با خلوص بالا به دست می آید. با این حال مشکلات از آنجا شکل می گیرد که باید پپتیدهای غنی از cys به ساختاری اختصاصی که به وسیله پیوندهای دی سولفیدی داخلی پایدار گشته اند در بیایند. نباید تعجب کرد که تا خوردن اختصاصی برخی از پپتیدهای غنی از cys سنتتیک هنری پیچیده است. سنتز پپتیدهای غنی از cys نوترکیب در باکتریها، پپتیدهایی با تا خوردگی اشتباه تولید می کند که ترکیباتی با حلالیت پایین تولید می کنند که باید در شرایط احیاء استخراج شود. چنین پپتیدهای نوترکیبی باید مجدداً دناتوره شده تا تا خوردگی پیدا کند. این مشکلات تکنیکی زمانی جمع می شود که میزان پایینی از پپتید طبیعی به عنوان استاندارد در دسترس است تا موقعیت تا- خوردگی مجدد بررسی و تعیین شود (15).

سیستمهای متعدد میزبان- ناقل به منظور تولید AMP ها با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب استفاده شده است. E.coli بیشترین استفاده را به خاطر هزینهٔ پایین تخمیر نسبت به سلولهای پستانداران و قابلیت تولید IB که کمک به فرآیند تخلیص می کند، داشته است. مهم ترین علت موفقیت در بیان AMP در E.coli استفاده از پروتئینهای متصل بوده که شامل پروتئینهای بزرگی هستند که به هم مربوط نبوده و به پپتید مورد نظر متصل شده اند. این کار با حذف اثرات سمی AMP و جلوگیری از تخریب پروتئولیتیک آن در میزبان به افزایش بیان کمک می کند. استفاده از پروتئین متصل برای بیان پپتید مولتی مر الزامی است. اگر چه تصور می شد که مولتی مر شدن به تنهایی، کاهش سمیت پپتید برای سلولهای E.coli را به همراه دارد؛ اما مشخص شده که این تفکر نادرست است. اضافه کردن جایگاه های Met که در هر انتهای مونومر های پپتید قرار دارند به منظور شکست مولتی مرها در حین تخلیص استفاده شده است (2).

Haught و همکارانش در سال 1998، P2 را به صورت متصل با پروکیموزین گاوی در E.coli با موفقیت بیان کردند. P2 یک AMP 23 آمینو اسیدی است که بعد از بیان آن، پروتئین متصل 16 درصد کل پروتئین سلولی را تشکیل می داد و به صورت I.B درآمد. I.B ها به وسیلهٔ سانتریفیوژ تخلیص شده و سیانوژن بروماید برای شکستن رابط Met که دو پروتئین متصل را جدا می کرد، استفاده شد. پس از آن HPLC تعویض کاتیونی و HPLC فاز معکوس برای تخلیص به کار رفت. ثابت شد که فعالیت ضد میکروبی P2 حاصل، مشابه کنترلی که از طریق شیمیایی سنتز شده بود، است.

Buforin II در قالب تکرارهای متوالی که متصل به یک پپتید اسیدی بودند در E.coli بیان شد. جزء اسیدی با خنثی کردن شارژ قلیایی پپتید مورد نظر باعث تشکیل I.B شد. I.B ها پس از جداسازی توسط سانتریفیوژ و سونیکاسیون مجدداً حل شدند و با سیانوژن بروماید تیمار شدند. فعالیت ضد میکروبی Buforin II نوترکیب به وسیلهٔ روش انتشار شعاعی با

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

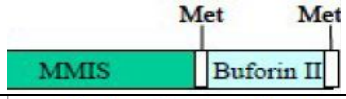
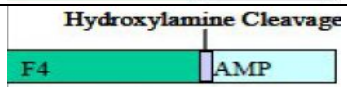
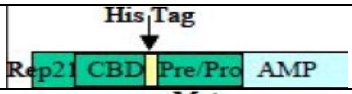
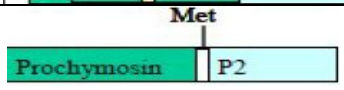
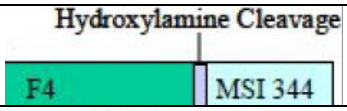
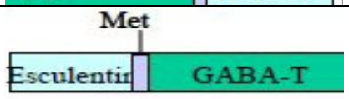
نوع طبیعی مقایسه گردید و مشاهده شد که فعالیت ضد میکروبی مشابهی دارد.

سیستمی که بتواند برای بیان انواع AMP ها به کار رود، به صورت بیان AMP مورد نظر در اتصال با پلی پپتید F4 طراحی شد. F4 موجب تشکیل I.B ها می شود. از میان انواع پپتیدهایی که با این روش تولید شده اند MSI-344 جداسازی و تخلیص شد.

کروماتوگرافی تعویف کاتیونی برای تخلیص پروتئین متصل متصل استفاده شد و هیدروکسی لامین به منظور جدا کردن MSI-344 از F4 به کار رفت (16).

جدول زیر تعدادی از سیستمهای بیانی را که برای AMP ها استفاده شده به همراه محاسن و معایب آنها نشان می دهد (2).

جدول 2. سیستمهای بیانی برای AMPها که در مقالات استفاده شده است. پپتید ضد میکروبی=AMP ، اسید آمینه متیونین =Met، دومین اتصال به سلولز= CBD.

پپتید نوترکیب	مزایا	معایب	منبع
	استفاده از PGEX تجاری کاهش تخریب.	نیاز به افزودن قطعه pre-pro به منظور بیان. استفاده از S.aureus برای بیان.	Piers et al. 1993
	استفاده از وکتور Pet21c تجاری. استفاده از توالی مداخله گر ...	ژنهای چندگانه پپتید و fusion.	Lee at al. 1998
	استفاده از ژنهای چندگانه پپتید. همجوشی F4 باعث تسریع تشکیل اینکلوژن بادی می شود.	بهره دهی قابل توجهی گزارش نشده و فرض بر این است که پایین باشد. پلاسمید تجاری قابل دسترس نیست.	Hwang et al. 2001
	استفاده از ژنهای چندگانه پپتید.	نیاز به همجوشی چندین پروتئین است.	Zhang et al. 1998
	همجوشی پروتئین باعث تسریع تشکیل اینکلوژن بادی می شود. طراحی ساده	بهره دهی پایین پروتئین.	Haught et al. 1998
	بهره دهی بالای بیان طراحی ساده	پلاسمید تجاری قابل دسترس نیست.	Lee at al. 2000
	استفاده از همجوشی C-ترمینال به جای N-ترمینال که در تمامی مقالات دیگر استفاده شده است. پلاسمید تجاری قابل دسترس	بهره دهی پایین پروتئین.	Ponti et al. 1999

این روشهای آرایش ژنی برای AMP ها به دلیل مشکلات بیان در حین آزمایش عقب نشسته اند. مقدار محصول تولیدی که AMP فعال تولید می کند بر اساس نوع روش بیان پروتئین و روش تخلیص متفاوت است. به عنوان مثال غلظت نهایی esculentin-GABA-Ts و Met P2 که خالص شده بودند تنها 0.5-1mg/L بود که در یک کشت فلاکس 1 لیتری تولید شده بود و با RP-HPLC خالص سازی شد. از طرف دیگر MMIS-Buforin II به میزان 107mg/L در فرمانتور 30 لیتری و با استفاده از کشت در تراکم بالا و زمان القای طولانی تولید شد (2).

سطح بیان مولکولهای چند زیر واحدی بزرگ با استفاده از پروموتور tal به مراتب نسبت به پروموتور T7 افزایش می یابد که احتمالاً به خاطر پایدار ماندن رونوشتها در نتیجهٔ همزمانی رونویسی با ترجمه است. به علاوه بیان همزمان یک پروتئین کلاس DEAD که یک پروتئین اتصالی به RNA است با استفاده از سیستم بیان T7 سطح بیان مولتی مرها ، به خصوص مولتی مرهای بزرگ را افزایش می دهد؛ که به خاطر حفاظت نسخه های RNA طویل است. به علاوه، استفاده از سلولهای حاوی ژن جهش یافتهٔ truB سطح بیان مولتی مرهای پشت سر هم را که دارای دو جایگاه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

cys در هرانتهای مونومرهای خود هستند افزایش می دهد که به نظر می رسد نتیجهٔ تشکیل پیوندهای دی سولفیدی است که خود موجب خنثی سازی مناسب بار برای تشکیل اینکلوژن-بادی(IB) شده و در نتیجه سطح بیان افزایش می یابد.

آزمایشات زیادی به منظور بیان پپتیدهای مولتی مر در E.coli به عنوان راهی برای تولید جرم مؤثر انجام شده است. اگر چه بیان مولتی مرهای پشت سر هم موجب بهبود و افزایش بیان پپتیدها می شود ولی همیشه سطح بیان نسبت مستقیم با درجهٔ مولتی مر شدن ندارد به ویژه در مورد مولتی مرهای بلند (17).

با وجود تفاوتها در نوع پروتئینهای اتصالی و وکتورهای بیانی در مطالعات انجام شده، شباهتهای زیادی در روشهای بیان ژن و خالص سازی وجود دارد. تمام آنها از E.coli با پروموتر Lac استفاده کرده و از IPTG به عنوان القاگر نفع برده اند. جایگاه های Met در بین دو جزء متصل استفاده شده تا امکان شکست بوسیله CNBr وجود داشته باشد زیرا فعالیت AMP ها همراه با جزء اتصالی دیده نمی شود. هیدروکسی لامین نیز برای شکست پیوند پپتیدی Asn-Gly که AMP و پروتئین اتصالی را به هم متصل می کند استفاده شده است.

در روشی، مولتی مرکردن فقط AMP ها (indolisidin) صورت گرفته که فرض شد از این طریق، سمیت پپتید بر روی میزبان با القای تا خوردن غیر طبیعی که لطمه ای هم به میزبان وارد نمی کند، کاهش می یابد. از طرف دیگر این روش مقدار بیان را همزمان افزایش می دهد؛ از آنجا که indolisidin پس از ورورد به سلول از طریق اختلال سنتز DNA فعالیت ضد میکروبی خود را اعمال می کند، این روش باعث می شود تا این مولتی مرها در داخل E.coli غیر فعال بوده و به آن آسیب نرسانند. با ایجاد جایگاههای Met در انتهای هر مونومر پس از خالص سازی، می توان مونومرهای فعال را به دست آورد (2).

در روشی امکان تولید مؤثر AMP ها در باکتریها به وسیله اتصال به دومین هیستونی فاکتور رونویسی TAF12 انسانی نشان داده شده است. این جزء اتصالی کوچک امکان بیان AMP را فراهم کرده و منجر به تجمع آنها به صورت IB می شود که در نتیجه سمیت را برای میزبان حذف میکند. با استفاده از LAH4 به عنوان نمونه، نشان داده شد که نیازی به AC برای جداسازی TAF12 نیست و هم چنین IBها به طور مستقیم در اسید فرمیک حل شده و منجر به رهایی پپتید با شکست از محل Asp-Pro می شود. در نتیجه یکنواختی محلول حاوی پپتید با یک مرحله کروماتوگرافی حاصل می شود. به خاطر افزایش بیان دومین هیستونی TAF12 و اندازهٔ کوچک آن (8KDa) این روش خالص سازی موجب تولید بیش از 10mg/L محصول می شود. نشان داده شده که اتصال با TAF12 می تواند برای انواع گسترده ای از AMP ها به کار رود و با نشاندار کردن ایزوتوپی مؤثر آن میتوان از آن در مطالعات NMR استفاده کرد (18).

Helge Holo و همکارانش نشان داده اند که یک AMP که توسط P.jensenii LMG 3032 تولید می شود، پس از ترشح توسط سلول به صورت یک proprotein (پیش ساز پروتئینی) بوده و غیر فعال است و در اثر پروتئازهای محیطی فعال می شود؛ که این نیاز به پروتئاز خارجی روشی جدید برای تولید AMPها فراهم می کند (19).

استفاده از سیستمهای بیان هترولوگ برای AMP ها مزیتهای مختلفی نسبت به سیستمهای طبیعی دارد؛ مانند کنترل بیان ژن باکتریوسین یا رسیدن به سطوح بالای تولید. سیستمهای بیان هترولوگ معمولاً 3 هدف عمده دارد:1- کمک به وضوح عملکرد پپتیدها و پروتئین های نوترکیب،2- تسهیل کنترل رونویسی یا ترجمهٔ بیان ژن. 3 رسیدن به سطوح بالاتر تولید نسبت به منابع طبیعی،ساخت سوشهای تولید کنندهٔ چند باکتریوسین و یا دستیابی به خواص ضد میکروبی به وسیلهٔ سوشهای صنعتی هدف دیگری است که می تواند با سیستمهای بیان هترولوگ عملی شود. توسعهٔ سیستمهای تولید هترولوگ باکتریوسینهای LAB با استفاده از انتقال دهندهٔ سیستم پردازش و ترشحی ABC یا سیستمهای ترشحی وابسته به sec می تواند بر مشکلاتی که LAB های تولید کنندهٔ باکتریوسینها در فرآیندهای غذایی دارند غلبه کند؛ مانند سازگاری پایین آنها، تولید کم یا ناپایداری میان ژنهای مهار کد

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

کنندۀ سیستمهای ترشحی و پردازش در سطح غذا بر پایۀ مثلاً پروموتر pnisA قابل القا یا P gad قابل القا با نمک می تواند روش جالب دیگری برای رسیدن به سطوح بالای تولید باکتریوسینهای هترولوگ باشد. به عنوان مثال ترشح افزایش یافتۀ Pediocin در سویه ای از L.lactis به دنبال افزایش بیان القا شدۀ ژن آن (pedC) با استفاده از پروموتور Pgad گزارش شده است. نقاط ضعف سیستمهای بیان هترولوگ برای LAB های تولید کنندۀ باکتریوسینها، سطوح پایین تولید و نامناسبی برخی سیستمها برای برخی گونه ها و سوشهاست. با این حال سیستمهای گزارش شده می تواند به عنوان مدلی برای تولید سایر پپتیدها از LAB ها مانند پپتیدهای طعم دهنده، AMP های یوکاریوتی، سیتوکینها یا آنتی ژنهای اختصاصی به کار رود (20).

یک مشکل بالقوه در رابطه با استفاده از باکتریوسینها به عنوان نگهدارنده های زیستی در غذاها شکل گیری جمعیتهای مقاوم باکتریهای غامض و پیچیده است. در نتیجه، تعدادی از مطالعات برای امکان ایجاد تولید کننده های باکتریوسینهای متعدد انجام شده است؛ مانند تولید هترولوگ و همزمان Pediocin PA-1 و Nisin در L.Lactis (21).

با این حال فرمول و ساختار پپتید فی نفسه شرایط غیر ایده آلی به منظور استفاده دارویی مطرح می کند؛ از جمله به خاطر مسائل فراهم آری زیستی پایین، پتانسیل ایمونوژن بودن، سمیت انتخابی و هزینۀ تولید گسترده.به منظور غلبه براین مشکلات، پپتیدهای سنتتیک که ویژگیهای اصلی بیوفیزیکی را دارا بوده و به صورت اولیگومرهای دارای توالیهای اختصاص غیر طبیعی هستند، طراحی شده اند (9).

یک سیستم رآکتوری جدید به نام بیوراکتور دارای دیسک چرخان (RDBR) به منظور تقلید شرایط اکتینوباکتریهای مقاوم به نمک دهانگاه (رود) که از حومه ی رود بنگال هند جدا شده بودند و شامل MS310، MS3/20 و MS1/7 هستند راه اندازی شد. شرایط عمل RDBR: سرعت چرخش 1 دور در روز، 50% دیسک ها غوطه ور بودند، سرعت جریان هوا 1vvm و محیط حاوی ساکارز که به خوبی شرایط جزر و مدی محل سکونت این باکتریها را ایجاد می کند و موجب تشکیل بیوفیلم و تولید متابولیتهای ضد میکروبی به ویژه اکتینو مایسینD- به وسیلۀ MS310- می شود. شروع تولید آنتی بیوتیک به وسیله MS310 در ساعت 20ام در RDBR است که در شرایط بیورآکتور دارای تانک همزندار(STBR) درساعت 55ام است. به علاوه حداکثر خاصیت ضد میکروبی تولید شده پس از 45h در RDBR به دست می آید که با STBR در 144h بعد حاصل می شود. در مورد Ms1/7 و Ms3/20 نیز همین طور است.در کل RDBR جایگزین مناسبی برای STBR به منظور تولید مواد ضد میکروبی توسط باکتریهای تشکیل دهندۀ بیوفیلم است؛ به خاطر نسبت سطح به حجم خیلی بالا، هزینۀ کمتر و راحتی کاربرد آن (22).

روشهای جداسازی و خالص سازی باکتریوسینها:

جداسازی و خالص سازی باکتریوسینها از محیط تخمیر مایع پیچیده در ابتدا بر اساس خواص کاتیونی و آب گریزی این ترکیبات است. مراحل خالص سازی معمولاً شامل رسوب دهی با آمونیوم سولفات و به دنبال آن مجموعه ای از IXC و HIC و RP-HPLC در پایان است. یک روش سریع خالص سازی nisin A با استفاده از کروماتوگرافی جذب ایمنی توصیف شده است که برای مقیاس های تجاری مناسب نیست، با این حال موجب خلوص بسیار بالا می شود. روشهای متعددی بر پایۀ جذب سطحی و وا تراوش یا جداسازی فازی برای خالص سازی باکتریوسینها در مقیاس وسیع توسعه یافته است. باکتریوسینها را می توان با جذب سطحی بر روی سلولهای تولید کننده در pH= 6-6.5 و به دنبال آن جداسازی سلولی و وا تراوش در pH= 2 با Nacl 1M جدا سازی کرد. سیستمهای فیلتراسیون جریان سیال می توانند جایگزین سانتریفیوژ شده و قابلیت اجرای بهتری برای جداسازی سلولها در مقیاس وسیع دارند. با این حال در صورتی که غلظت باکتریوسین بالا باشد، توانایی سلولها در جذب آن اشباع شده و منجر به جداسازی کامل باکتریوسین از بخش سلولی نمی شود. ترکیبات سیلیکایی منفذ دار قابل مصرف مانند Microcel E نیز برای جدا سازی باکتریوسینها استفاده شده اند. روش خالص سازی دو مرحله ای ساده ای نیز بر پایۀ جدا سازی فازی با

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

استفاده از تریتون 114 و کروماتوگرافی تعویض کاتیونی راه اندازی شده است. اضافه کردن 2% دترژنت به محلول رویی کشت موجب تجمع devercin 791 در فاز دترژنت شده و سپس devercin 791 با یک رزین تعویض کاتیونی با استفاده از کلرید سدیم0/7 M با خلوص 95% شسته می شود. این روش برای جدا سازی nisin نیز مفید است. به منظور تأییدیه گرفتن AMPها توسط FDA، باکتریوسین باید از نظر شیمیایی مشخص شده باشد؛ کاربرد و مؤثر بودن آن تأیید شده باشد؛ روش تولید توصیف شود و روشهای اندازه گیری و استاندارد سازی آن مشخص شود و در نهایت ویژگیهای سم شناسی (ایمنی و تولرانس) و گردش فیزولوژیکی آن پس از هضم در بدن تأیید شود (1).

بحث و نتیجه گیری

تحقیقات گذشته و در حال انجام بر روی پپتیدهای ضد میکروبی نشان داده اند که این ترکیبات پتانسیل بسیار بالایی برای کاربرد در صنایع غذایی و پزشکی دارند. کشفیات مداوم پپتیدهای ضد میکروبی جدید و درک فرآیند، سیستم های زیستی که درسنتز، ایمنی و تنظیم پپتیدهای ضد میکروبی نقش دارند امکان پیشرفتها را در این زمینه با تأکید بر کاربردهای عملی در صنعت هموار نموده است. مهندسی ژنتیک یا اصلاحات شیمیایی باکتریوسینها به منظور بهبود خواص عملکردی آنها درسالهای اخیر مورد توجه بوده است که توسعهٔ قابل توجهی در فن آوری باکتریوسینها شده است. در حالی که اکثر تحقیقات کلاسیک برای یافتن پپتیدهای ضد میکروبی بر روی منابع پروکاریوتی بوده است، با این حال شواهد زیادی نشان می دهد که اکثر اشکال حیات، پپتیدهای کوچکی با خواص ضد میکروبی تولید می کنند. این موارد نه تنها شامل باکتریوسینهای باکتریایی، بلکه ترکیبات شبه پروتئینی آبدوست در یوکاریوتها مانند defensin و cathelicidinهای پستانداران، magainin از قورباغه ها، thanatin ازحشرات و thionin از گیاهان می شود.در حال حاضر این نوع کشفیات منجر به راه اندازی پروژه های در مقیاس بزرگ برای سنتز انواعی از پپتیدها، به ویژه پپتیدهای حلقه ای که خواص ضد میکروبی دارند، شده است. از طرف دیگر تعداد زیادی از پپتیدهای ضد میکروبی شناخته شده است که هنوز کاربرد مناسبی پیدا نکرده اند. بنابراین کارهای بیشتری به منظور بررسی کاربردهای این ترکیبات، به ویژه در بخش های جدید صنایع غذایی و پزشکی، باید انجام شود. برای نمونه دانش روز افزونی در زمینهٔ نقش پپتیدهای ضد میکروبی بر روی کاهش شیوع برخی از سرطانها، به ویژه سرطان کلون وجود دارد. مکانیسم دقیق این عمل شناسایی نشده ولی احتمالاً به خاطر کنترل ترکیبات جهش زا در داخل روده با اتصال مستقیم به عوامل سرطان زا یا مهار میکروبهایی که این عوامل را تولید می کنند می باشد. بنابراین پتانسیل بالایی در زمینهٔ استفاده از پپتیدهای ضد میکروبی وجود دارد و تحقیقات بیشتری در این زمینه می تواند به نتایج بسیار خوبی منجر شود که اثرات قابل توجهی در صنایع غذایی و پزشکی داشته باشد (1).

References

1-Shetty K, Paliyath G, Pometto A, E Levin R, editors. Food Biotechnology. Second Ed. New York: CRC Press; 2005.

2-Morin KM, Arcidiacono S, Beckwitt R, Mello CM. Recombinant expression of indolicidin concatamers in Escherichia coli. Appl Microbiol Biotechnol 2006;70:698-704.

3-Cheikhyoussef A, Pogori N, Chen W, Zhang H. Antimicrobial proteinaceous compounds obtained from bifidobacteria: From production to their application. Int J Food Microbiol 2008; 125:215-22.

4-Niklison Chirou MV, Minahk CJ, Morero RD. Antimitochondrial activity displayed by the antimicrobial peptide microcin J25. Biochem Biophys Res Commun. 2004;317:882-6.

5-Bellomio A, Rintoul MR, Morero RD. Chemical modification of microcin J25 with diethylpyrocarbonate and carbodiimide: evidence for essential histidyl and carboxyl residues. Biochem Biophys Res Commun 2003;303:458-62.

6-Mukhopadhyay J, Sineva E, Knight J, Levy RM, Ebright RH. Antibacterial

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

peptide microcin J25 inhibits transcription by binding within and obstructing the RNA polymerase secondary channel. Mol Cell 2004; 14:739-51.
7-Bellomio A, Vincent PA, de Arcuri BF, Farías RN, Morero RD. Microcin J25 has dual and independent mechanisms of action in Escherichia coli: RNA polymerase inhibition and increased superoxide production. J Bacteriol 2007;189:4180-6.
8-Patton GC, van der Donk WA. New developments in lantibiotic biosynthesis and mode of action. Curr Opin Microbiol 2005;8:543-51.
9-Rotem S, Mor A. Antimicrobial peptide mimics for improved therapeutic properties. Biochim Biophys Acta 2009;1788:1582-92.
10-Chou HT, Kuo TY, Chiang JC, Pei MJ, Yang WT, Yu HC, et al. Design and synthesis of cationic antimicrobial peptides with improved activity and selectivity against Vibrio spp. Int J Antimicrob Agents 2008;32:130-8.
11-Marcos JF, Muñoz A, Pérez-Payá E, Misra S, López-García B. Identification and rational design of novel antimicrobial peptides for plant protection. Annu Rev Phytopathol 2008;46:273-301.
12-Wang YQ, Cai JY. High-level expression of acidic partner-mediated antimicrobial peptide from tandem genes in Escherichia coli. Appl Biochem Biotechnol 2007;141:203-13.
13-Saha M, Ghosh D Jr, Ghosh D, Garai D, Jaisankar P, Sarkar KK, et al. Studies on the production and purification of an antimicrobial compound and taxonomy of the producer isolated from the marine environment of the Sundarbans. Appl Microbiol Biotechnol 2005; 66: 497-505.
14-Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. Int J Food Microbiol 2001;71: 1-20.
15-William MS, editor. Antibacterial Peptide Protocols (Methods in Molecular Biology Volume 78). Tokowa:Humana Press; 1997. p115.
16-Hossain MS, Biswas I. SMU.152 acts as an immunity protein for mutacin IV. J Bacteriol 2012;194:3486-94
17-Lee JH, Kim MS, Cho JH, Kim SC. Enhanced expression of tandem multimers of the antimicrobial peptide buforin II in Escherichia coli by the DEAD-box protein and trxB mutant. Appl Microbiol Biotechnol 2002; 58:790-6.
18-Vidovic V, Prongidi-Fix L, Bechinger B, Werten S. Production and isotope labeling of antimicrobial peptides in Escherichia coli by means of a novel fusion partner that enables high-yield insoluble expression and fast purification. J Pept Sci 2009;15:278-84.
19-Faye T, Brede DA, Langsrud T, Nes IF, Holo H. An antimicrobial peptide is produced by extracellular processing of a protein from Propionibacterium jensenii. J Bacteriol 2002;184:3649-56.
20-Papagianni M. Ribosomally synthesized peptides with antimicrobial properties: biosynthesis, structure, function, and applications. Biotechnol Adv 2003; 21: 465-99.
21-O'Sullivan L, Ross RP, Hill C. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. Biochimie 2002; 84: 593-604.
22-Sarkar S, Saha M, Roy D, Jaisankar P, Das S, Gauri Roy L, et al. Enhanced production of antimicrobial compounds by three salt-tolerant actinobacterial strains isolated from the Sundarbans in a niche-mimic bioreactor. Mar Biotechnol (NY) 2008;10:518-26.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]

Synthesis of antimicrobial peptides in bacteria

Hamidi M[1], Mousavi NasabS.D[2], Ahmadi N[3], Basati Gh[4], Aolad G.R[5], Salimian J[5], Zargar M[6]*

(Received: Accepted:)

Abstract

Antimicrobial peptides (AMP) are diverse group of antimicrobial compounds, which are due to the emergence of pathogenic bacteria resistant to common antibiotics, are of great interest. These molecules like proteins often contain modified amino acids that are not found in the nascent polypeptides made by ribosomes. These compounds include both bacteriocin and peptide antibiotics, which are classified based on their mechanism of biosynthesis. Bacteriocins are synthesized by ribosomes and are active against those closely related bacteria. Antimicrobial peptides are not synthesized by ribosomes and synthesized in step-wise condensation reactions by large non-ribosomal peptide synthetases (NRPS). The main obstacle to the use of AMP as antibiotics is the lysis of eukaryotic cells by them. For applying ANPs as pharmaceutical agents, they must both have a high antimicrobial activity and a low hemolytic activity. Other obstacles such as other potential toxicity, high cost of production, poor bioavailability and etc, should also be considered. Multiple host-vector systems for the production of AMPs using recombinant DNA technology have been used that among them the E.coli had the highest performance. Thus, there is great potential in the field of antimicrobial peptides and further research in this area could lead to excellent results that would have significant impacts on the food and medicine industries.

Key words: peptide, antimicrobial, bacteria

1. Young Researchers Club, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran
2. Dept of Virology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Dept of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
5. Microbiology Research Center, Baghyatollah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Dept of Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University of Ghom, Ghom, Iran
**(corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-15]