مقدمه

اغلب باکتری ها در محیطی که قرار گرفته اند قادرند رشد و گسترش میکروارگانیسم های دیگر را تحت تأثیر قرار دهند که این کار را با تولید پروتئین هایی از قبیل لیزین ها، مورامیدازها و پپتیدهای دیگری که باکتریوسین نامیده می شوند، انجام می دهند. این پپتیدها قادرند که پوشش سلولی را تحت تأثیر خود قرار بدهند که هر کدام از آن ها این کار را با روش های متفاوتی انجام می دهند.

وقتی از اصطلاح باکتریوسین استفاده می شود که مانع رشد میکرو ارگانیسم‌های دیگر می شود، اولین چیزی که به ذهن می رسد. این است که آیا این باکتریوسین ها همان آنتی بیوتیک هایی هستند که توسط میکرو ارگانیسم ها تولید می شوند و روی رشد و گسترش میکرو ارگانیس‌م ها تأثیر می‌گذارند؟

در واقع آنتی بیوتیک و باکتریوسین تفاوت های زیادی دارند اگر چه هر دو درانتهای فاز لگاریتمی از رشد باکتری تولید می شوند.

جدول تفاوت باکتریوسین و آنتی بیوتیک

Characteristics	Bacteriocins	Other antibiotics
Application	Foods	Clinical
Synthesis	Ribossomally	Secondary metabolism
Activity	Limited spectrum	Wide spectrum
Presence of immune Cells	Present	Absent
Action mode	The most through the channel formation in the cell cytoplasmic membrane	Specific target
Effects in eukaryotic cells	Absent	Present

همان طور که در جدول مشاهده می کنید باکتریوسین ها پروتئین هایی هستند که توسط ریبوزوم سلول باکتری تولید می شوند در صورتی که آنتی بیوتیک ها متابولیت های ثانویه تولید شده توسط باکتری ها هستند که ساختار های بسیار پیچیده ای دارند در صورتی که ساختار باکتریوسین از توالی چندین اسید آمینه با تغییرات کمی تولید شده و ساختاری به پیچیدگی

ساختار آنتی بیوتیک‌ها ندارند و همچنین می توانید محدوده فعالیت آن ها را با هم مقایسه بکنید به طوری که باکتریوسین ها محدوده فعالیت وسیعی ندارند و زمانی که توسط یک باکتری تولید می شوند فقط قادرهستند روی یک یا چند باکتری تأثیر بگذارند ولی در مورد آنتی بیوتیک ها شرایط متفاوت است به طوری که از لحاظ فعالیت محدوده وسیعی دارند و قادرند که روی باکتری های بسیاری تأثیر بگذارند و همچنین تفاوت های دیگری دارند که در جدول مشاهده خواهید کرد (4).

باکتریوسین ها از لحاظ وزن مولکولی بسیار متفاوت هستند و هر کدام دارای گروه های آمینواسیدی متفاوتی هستند که البته این تفاوت در گروه های آمینواسیدی دلیل فعالیت آنتی میکروبی متفاوت آن ها نیست.

باکتریوسین ها توسط باکتری های gr^+ و gr^- و حتی آریکاها تولید می شوند در صورتی که باکتریوسین های تولید شده توسط باکتری های gr^+ قادرند که روی باکتریهای gr^+ تأثیر بگذارند و تأثیر آنها روی gr^- ها بسیار اندک است و حالت عکس این مسئله نیز وجود دارد. این باکتریوسین ها به صورت اختصاصی عمل می کند و تأثیرات آن ها محدود به باکتری های خاص است.

ژنتیک باکتریوسین ها

ژن هایی که کد کننده باکتریوسین ها هستند ممکن است روی کروموزوم باکتری قرار گرفته باشند که این حالت در کلاس I وIIa بیشتر دیده می شود و به عنوان مثال می توانیم به EnterocinB و EnterocinA اشاره کنیم که ژن کد کننده آن ها روی کروموزوم باکتری *Enterococcus faecium* قرار گرفته است که ممکن است روی پلاسمید موجود در باکتری قرار گرفته باشد یا اینکه می‌توان به Lacticin 3147 اشاره کرد که ژن کد کننده آن روی پلاسمید باکتری *Lactobacillus lactis* قرار گفته که یک پلاسمید 63kb است .

یا این که ممکن است روی ترانسپوزون قرار گرفته باشد که باز ممکن است که این ترانسپوزون روی کروموزوم باکتری قرار بگیرد که می توان به Nisin اشاره کرد که ژن کد کننده آن روی ترانسپوزون Tn5276 قرار گرفته و این ترانسپوزون نیز روی کروموزم باکتری نشسته است . یا اینکه ممکن است این ترانسپوزون روی پلاسمید باکتری قرار بگیرد که می توان به lacticin481 اشاره کرد که ژن کد کننده آن روی ترانسپوزون Tn5721 قرار دارد که روی پلاسمید باکتری *lactobacillus lactis* نشسته است .

در مورد Carnobacteriocin BM1 قضیه بسیار متفاوت است که طوری که ژن کد کننده ساختار اولیه این باکتریوسین روی کروموزوم باکتری Carnobacteriam piscicola قرار گرفته و ژن کد کننده پروتئین ایمنی و حفاظت کننده و انتقال دهنده روی پلاسمید این باکتری قرار گرفته است . (5)

باکتریوسین ها به طور معمول دارای چندین ژن هستند که هر کدام از این ژن ها در تولید، ترشح، تغییر و حفاظت باکتریوسین ها دخیل هستند که شامل ژن های زیر می باشند :

ژن ساختمانی : این ژن ساختار اولیه باکتریوسین را ایجاد می کند. در برخی از باکتریوسین ها ساختار اولیه به صورت پرپپتید می باشد که در انتهای N ترمینال خود دارای یک توالی رهبر هستند که پس از شکست و جدا شدن این توالی رهبر پریپتید بالغ به باکتریوسین بالغ تبدیل می شود . این توالی رهبر در باکتریوسین ها به عنوان یک توالی رهبر برای انتقال است و حتی به عنوان یک سیستم دفاعی از سلول باکتری تولید کننده باکتریوسین نیز قلمداد می شود به این ترتیب که تا زمانی که این توالی رهبر به پپتید متصل است و هنوز باکتریوسین به صورت پر باکتریوسین می باشد غیر فعال است و هیچ تأثیری روی سلول باکتری ندارد و زمانی که پرباکتریوسین از سلول تولید کننده خارج شد به باکتریوسین بالغ تبدیل می شود.

ژن ایمنی یا حفاظت کننده : این ژن پروتئینی را تولید می کند که از سلول تولید کننده در برابر باکتریوسین تولید شده حفاظت می کند. ژن مربوط به این پروتئین در فرادست یا فرودست ژن ساختمانی قرار می گیرد پروتئین های حفاظت کننده دارای سایز های متفاوتی هستند که از 150-51 اسید آمینه را شامل می شوند.

ژن انتقال دهنده : باکتریوسین ها مانند دیگر مولکول های سنتز شده درون سیتوپلاسم که باید به بیرون منتقل شوند به یک یا چند راه انتقال احتیاج دارند . این ژن ها پروتئین هایی را تولید می‌کنند که به طور اختصاصی باکتریوسین را به بیرون انتقال دهد. بیشتر این پروتئین های انتقال دهنده ABCtransporter هستند که به حضور ATP هنگام انتقال نیازمند هستند .

ژن تولید کننده پروتئین های فرعی: که این پروتئین های فرعی در نزدیک غشاء قرار گرفته و کار انتقال را تسهیل می دهد.(6)

تقسیم بندی باکتریوسین ها :

باکتریوسین ها توسط باکتری ها gr^+ و gr^- و حتی آریکاها تولید می شوند که به صورت زیر دسته بندی می شوند .(6 و2)

gr +

- I
  - TypeA
  - TypeB
  - TypeC
- II
  - IIa
  - IIb
  - IIc
  - IId
- III
  - IIIa
  - IIIb
- IV

gr-

قادرند که سیستم

- Colicin and Colicin-like :اندازه آن ها بین 25-80 KD می باشد و SOS را القاء کنند.
- Smaller microcins : اندازه آن ها کمتر از10 KD می باشد و قادر به تحریک و القاء سیستم SOS نیستند.
- Phage tail-like: اجتماعی از پپتیدهای چند وجهی مقاوم به پروتئاز و نوکلئاز هستند و قادرند سلول های حساس را به وسیله دپلی مریزاسیون غشاء سلولی از بین ببرند.
- Halocins :اندازه های متنوعی دارند بین 3-35KD و نسبت به دما پایدار هستند از ویژگی مهم آن ها این است که فعالیت آن ها در حضور نمک صورت می گیرد.

Archaea

- Microhalocins : کوچکتر از 10 KD دالتون هستند.
- Protein halocins: بزرگتر از 10 KD دالتون هستند .

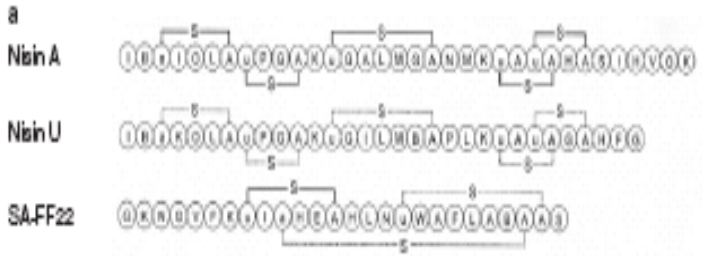
حال پس از تقسیم بندی ، هر کدام از کلاس های گفته شده را به اختصار توضیح می دهیم .

کلاس I : Lantibiotics

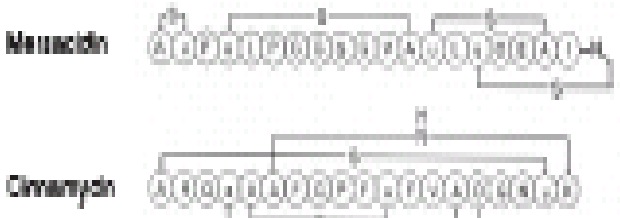
در باکتری های gr^+ کلاس اول معروف به لانتی بیوتیک‌ها هستند. این ها در واقع پپتیدهای ضد میکروبی تغییر یافته‌ای هستند که توسط رنج وسیعی از باکتری ها تولید می شوند. در این پپتیدها یک سری تغییرات پس از ترجمه ای رخ می دهد که شامل قرار گیری اسیدهای آمینه غیر معمول مثل لانتیونین و B متیل لانیتونین است. حال این اسیدهای آمینه لانتیونین و B متیل لانتیونین چگونه تولید می شوند ؟

ابتدا در اسیدهای آمینه سرین یا ترئونین دهیدراسیون رخ می دهد که باعث ایجاد α,β اسید آمینه های غیر اشباع می شود، سپس این اسیدهای آمینه غیر اشباع با سیستئین موجود در ساختار باکتریوسین باندهای دی سولفید تشکیل می دهد و لانتونین یا Bمتیل لانیونین را تشکیل می دهد . خود لانتی بیوتیک به سه تیپ تقسیم بندی می شوند .

TypeA : مولکول های قابل انعطاف طویل هستند که دارای یک بار مثبت می باشند و با دپلی مریزاسیون غشاء سلولی منجر به شکل گیری سوراخ هایی در غشاء و سوراخدار شدن آن می شوند. در این تیپ شکل گیری lan و B.M.lan به دنبال واکنش گروه سولفیدریل سیستئین با یک آمینو اسید غیر اشباع Proximal رخ می دهد .



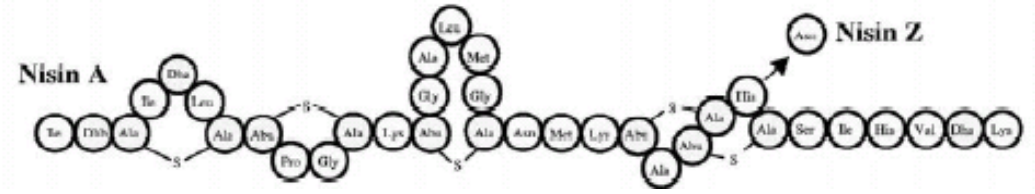
TypeB : بر خلاف تیپ A که یک ساختار خطی دارد این تیپ از لنتی بیوتیک ها دارای ساختار کروی هستند و مدل فعالیت این ها به این ترتیب است که مانع فعالیت آنزیماتیک ضروری برای رشد و بقاء باکتری هدف می شوند . در این پپتیدها شکل گیری lan و B.M.lan شامل واکنش بین گروه سولفید ریل لستئین با یک اسید آمینه غیر اشباع distal می باشد که در نتیجه باعث ایجاد یک مولکول کروی می گردد.



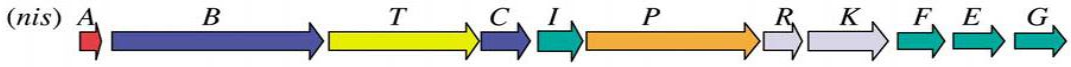
TypeC : که در واقع Multi-component هستند . این تیپ از لانتی بیوتیک ها شامل باکتریوسین های دو پپتیدی است که به تنهایی فعالیت مختصری دارند یا اصلاً فعالیت ندارند اما هنگامی که با هم هستند تأثیر آن ها به حداکثر خواهد رسید.(6 و3)

حال از لانتی بیوتیک های تیپ A ، NisinA را مثال می زنیم و ژنوم آن را بررسی می کنیم با توجه به توضیحات داده شده می دانید که NisinA دارای یک ساختار خطی است . این

باکتریوسین پروتوتایپ تیپ A می باشد و توسط باکتری *lactobacillus lactis* تولید می شود و در سال 1928 کشف شده و در حال حاضر بیش از 50 سال است که در صنایع غذایی از آن به عنوان یک نگهدارنده استفاده می شود .



NisinA : توسط 11 ژن کد می شود که هر کدام از این ژن ها یک پروتئین را کد می کنند که در تولید ، حفاظت، انتقال و بلوغ این باکتریوسین نقش دارند .



طبق این شکل می توان ترتیب قرار گیری هر کدام از ژن ها را مشاهده کرد

nisA ⟵ **NisA** : ساختار اولیه پروتئین را ایجاد می کند .

nisB,C ⟵ **NisB,NisC** : پروتئین های موثر در تغییر هستند که در واقع اسیدهای آمینه غیر اشباع را به این ساختار اضافه می کند .

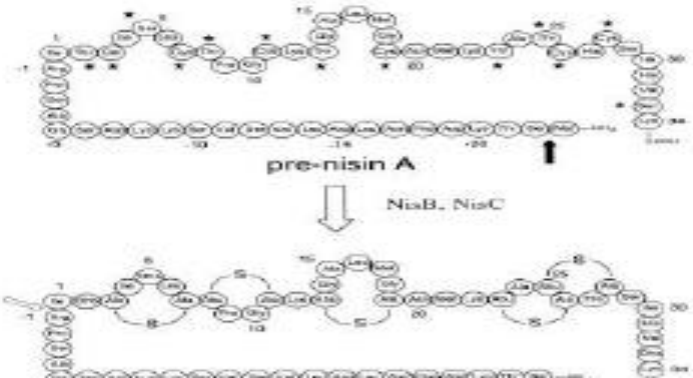
nisT ⟵ **NisT** : پروتئین انتقال دهنده Nisin به بیرون از سلول تولید کننده هستند .

nis I,F,E,G ⟵ **Nis I,E,F,G** : پروتئین های ایمنی هستند که از سلول تولید کننده در مقابل باکتریوسین تولید شده حفاظت می کنند.

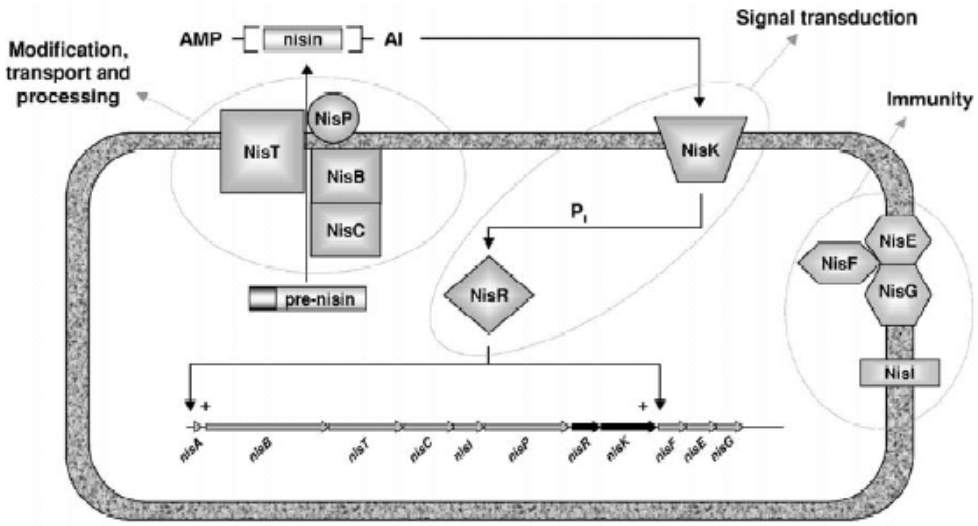
nisP ⟵ **Nisk,NisR** :یک پروتئاز است که مسئول تبدیل Nisin نابالغ به بالغ است و باعث جدا شدن توالی رهبر که در N ترمینال پپتید قرار گرفته است می شود.

nis k,R ⟵ **Nisk,NisR** : پروتئین های تنظیم کننده هستند NisK در واقع یک هستیدین پروتئین کیناز است و NisR نیز یک response regulator می باشد که توسط NisK فسفوریله شده و باعث تنظیم بیان ژن های درگیر در بیوسنتز Nisin می شوند.

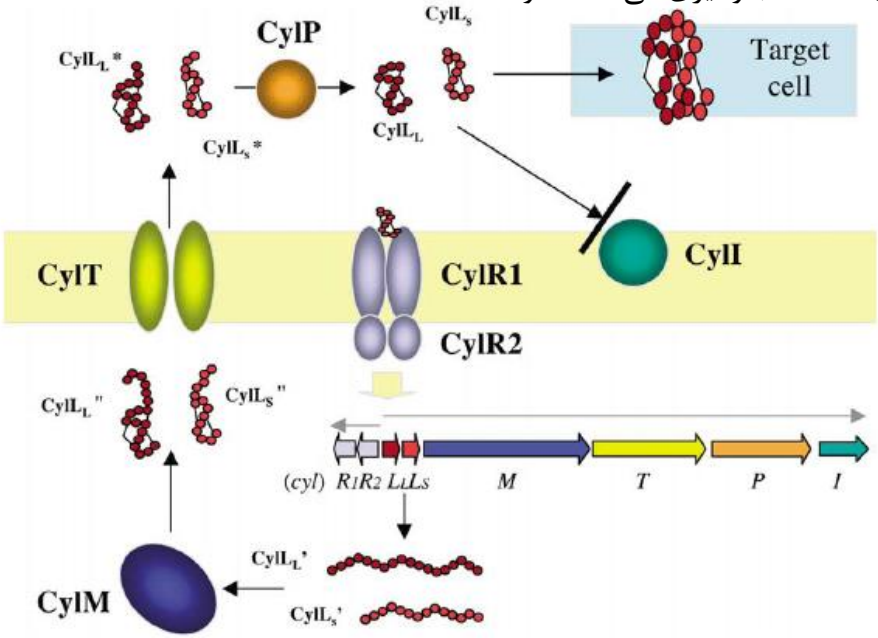
NisinA : ابتدا به صورت یک پرپپتید تولید می شود پس توسط NisB و NisC تغییر پیدا کرده و پس از آن توسط NisT به بیرون انتقال داده شده و توسط Nis P توالی N ترمینال از آن جدا شده و بالغ می گردد.



بیان ژن های تولید کننده NisinA توسط پدیده quarom sensing تنظیم می گردد که طبق این پدیده حضور Nisin بالغ در محیط باعث فعال شدن و تحریک Nis k می گردد و با فسفوریله شدن NisR ژنوم بیان می گردد.طبق شکل زیر محل قرار گیری هر کدام از این پروتئین ها نمایش داده شده است.(3)



باکتریوسین بعدی که مثال می‌زنیم cytolysinL_LL_S است که توسط باکتری *Enterocaccus faecalis* تولید می‌شود و جزء لانتی بیوتیک‌های TypeC دسته بندی شده است و در واقع طبق توضیحات داده شده باید دو پپتید با هم همکاری کنند تا باکتریوسین به درستی فعالیت خود را انجام بدهد. هشت ژن در بیوسنتز سیتولیزین درگیر هستند که دو ژن مربوط به پروتئین های ساختمانی است و ساختار اولیه هر کدام از پپتیدها را تشکیل می دهد. بیوسنتز این باکتریوسین نیز طبق پدیده quaram sensing تنظیم می‌گردد. ژن های $CylR_1$ و Cyl R_2 مسئول تولید پروتئین های $CylR_1$ و $CylR_2$ هستند که در غشاء سلولی باکتری یا چسبیده به غشاء قرار گرفته اند.
$CylR_1$ یک پروتئین متصل شونده به DNA می‌باشد. این‌ها به عنوان بازدارنده های بیان اپرون سیتولیزین هستند. در حالت عادی که سیتولیزین در محیط وجود ندارد. $CylR_2$ به DNA متصل است و مانع بیان ژن های بیوسنتز کننده سیتولیزین می شوند ولی در شرایط حضور سیتولیزین در محیط R_1 فعال شده و باعث تحریک R_2 شده و باعث می شود که CylR2 از روی کروموزوم برداشته شود و ژن های درگیر بیان شوند و طبق شکل زیر می بینید که CylM تولید می شود که باعث Modiffy شدن ساختار اولیه می شود و CylT باعث انتقال پرپپتید به بیرون گردد و CylP نیز توالی N ترمینال را برداشته و پرپپتید ها به یک پپتید بالغ تبدیل می شود. و نیز CylI به عنوان یک پروتئین حفاظت کننده ایمنی است که در غشاء قرار گرفته و از تأثیر سیتولیزین روی سلول تولید کننده جلوگیری می کند.(3و7)



مدل فعالیت لانتی بیوتیک ها:

باکتریوسین ها دارای فعالیت های متفاوت از آنتی بیوتیک ها هستند و به همین دلیل حتی مقاومت های آنتی بیوتیکی که در بسیاری از پاتوژن ها ایجاد می شود در مورد باکتریوسین ها این مقاومت ها وجود ندارد. در مورد لانتی بیوتیک ها مدل فعالیتشان با تولید و ایجاد سوراخ هایی را در غشاء و یا بلوکه کردن فعالیت آنزیم های ویژه در سلول هدف می باشد . به این ترتیب که یک سری

سوراخ هایی در غشاء سیتوپلاسمیک باکتری هدف ایجاد می کنند که با تولید این سوراخ ها تعادل ورود و خروج مواد در دو طرف غشاء به هم می خورد و سلول هدف متلاشی می شود و یا اینکه باعث بلوکه شدن آنزیم های ویژه ای در سلول هدف می شوند که این آنزیم ها برای فعالیت سلول حیاتی هستند و با این کار باعث از بین رفتن سلول هدف می شوند.(3 و6)

در جدول زیر باکتریوسین های قرار گرفته در کلاس I را مشاهده می کنید که در این جدول باکتریهای تولید کننده و همچنین ژن های درگیر در بیوسنتز این باکتریوسین ها نمایش داده شده است.(2)

Table 2. Known systems of lantibiotic production

Lantibiotics	Organisms*	SG	SP	RR	PTM	P	T	I	Literature sources
Nisin group									
Nisin A	LL	*nisA*	*nisK*	*nisR*	*nisB, nisC*	*nisP*	*nisT*	*nisI, nisF, nisE, nisG*	2, 10, 11, 12
Nisin Z	LL	*nisZ*							2, 29
Subtilin	BS	*spaS*	*spaK*	*spaR*	*spaB, spaC*		*spaT*	*spaI, spaF, spaG*	2, 30
Epidermin group									
Epidermin	SE	*epiA*		*epiQ*	*epiB, epiC, epiD*	*epiP*	*epiT'', epiT'*	*epiG, epiE, epiF*	2, 16
[Val1-Leu6]-epidermin	SE								2
Gallidermin	SE	*gdmA*			*gdmB*		*gdmE, gdmF, gdmT, gdmH*		2, 31
Mutacin B-Ny266	SM								2
Mutacin 1140	SM								2
Mutacin I	SM	*mutA*			*mutB, mutC, mutD*	*mutP*	*mutT*		32
Mutacin III	SM								2
Pep5 group									
Pep5	SE	*pepA*			*pepB, pepC*		*pepT*	*pepI*	2, 33
Epilancin K7	SE	*elkA*				*elkP*	*elkT*		2, 34
Epicidin 280	SE	*eciA*			*eciB, eciC*	*eciP*		*eciI*	2, 35
Lacticin 481 group									
Lacticin 481	LL	*lctA*			*lctM*		*lctT, lctE, lctF, lctG*	*lctF, lctE*	2, 36, 37
Streptococcin A-FF22	SPY	*scnA*	*scnK*	*scnR*	*scnM*		*scnT, scnE, scnF*	*scnF, scnE*	2, 38
Butyrivibriocin OR79A	BF	*bvi79*			*orf6*				2, 39
Salivaricin A	SS	*salA*	*salK*	*salR*	*salB, salC*		*salX, salT*		2,18
[Lys2, Phe7]-salivaricin A	SS								2
Variacin	MV								2, 40
Lactocin S	LS	*lasA*			*lasM*	*lasP*	*lasT*		2, 41
Cypemycin	SMY								2
Plantaricin C	LP								2
Mersacidin group									
Mersacidin	Bac.	*mrsA*	*mrsK2*	*mrsR2, mrsR1*	*mrsD, mrsM*		*mrsF, mrsG, mrsE, mrsT*		2, 17, 42
Actagardine	AL								2
Ala(0)-actagardin	AL								2
Cinnamycin group									
Cinnamycin	SMC								2, 43
Duramycin	SMC								2
Duramycin B	SVE								2
Duramycin C	SMG								2
Ankoverin	SMY								2

Table 2. (Contd.)

Lantibiotics	Organ-isms*	SG	SP	RR	PTM	P	T	I	Literature sources
Incomplete structure									
Sublancin 168	BS	*sunA*					*sunT*		2, 44
Mutacin II	SM	*mutA*			*mutM*		*mutT*	*mutF*	2, 45, 46
Carnocin UI 49; CP52	CP	*can CP52*						*arf2*	2
Nukacin ISK-1	Sta	*nukA*			*nukM*				2, 47
Incomplete structure (two-component lantibiotics)									
Cytolysin A1 + A2	EF				*clyM*	*clyA*	*clyB*		2, 48
Staphylococcin C55a + C55b	SA				*sacM1*		*sacT*		2, 49
Lacticin 3147A + 3147B	LL								2, 50
Plantaricin W	LP								51
Unclassified									
Ruminococcin A	RG	*rumA*	*rumK*	*rumR*	*rumM*		*rumF*		52
Streptin	SP								53

باکتریوسین های کلاس II

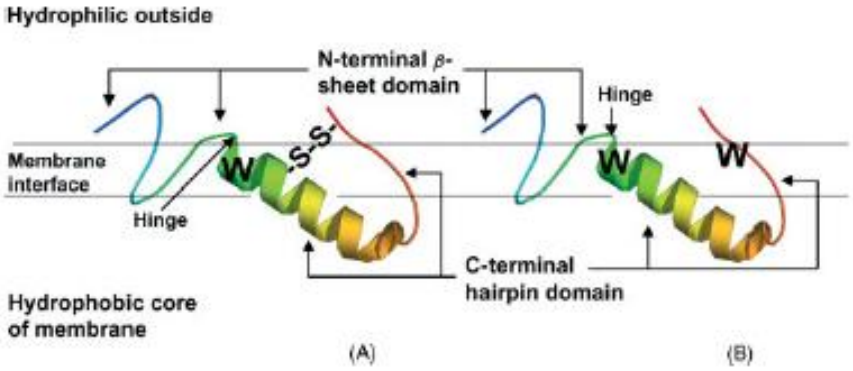
این کلاس از باکتریوسین ها ، باکتریوسین های کوچک (کمتر از 10KD) و مقاوم به حرارت و دما هستند . این باکتریوسین ها را می توان به عنوان باکتریوسین های کوچک فاقد اسیدهای آمینه غیر معمول قلمداد کرد . این ها غشایی هستند و مقاوم به حرارت و دما بوده به طوری که قادرند دماهای بالای 100C و حتی دمای اتوکلاو را تحمل بکنند بعضی از این ها توسط سایت های دابل گلیسن شناسایی می شوند.(2)

Pediocin-like peptides : IIa

این باکتریوسین ها توسط رنج وسیعی از باکتری های اسید لاکتیک تولید می شوند و بر علیه لیستریامنوسیتوژنز فعالیت دارند. از جمله خصوصیات بارز این دسته وجود یک Pediocin box در انتهای N ترمینال این پپتیدها می باشد که شامل اسید آمینه های YGNGV می باشد و نیز در همین N ترمینال نیز دارای سیستئین است که سیستئین و Pediocin box در طی تکامل این باکتریوسین ها حفظ شده است و کوچکترین تغییری در اسید آمینه های pediocin box باعث کاهش حساسیت این گروه نسبت به لیستریامنوسیتوژنز می شود. در انتهای C ترمینال نیز تنوع اسیدهای آمینه ای وجود دارد و در هر کدام از باکتریوسین ها متفاوت می باشد و در بعضی دارای C ترمینال حاوی تریپتوفان و در بعضی حاوی سیستئن است.(6،2و7)

```
1                          1        10        20        30        40        References
                           .         .         .         .         .
   Enterocin A:       TTHSGKYYGNGVYCTKNKCTVDWAKATTCIAGMSIGGFLGGAIPG--KC        21
   Divercin V41:          TKYYGNGVYCNSKKCWVDWGQASGCIGQTVVGGWLGGAIPG--KC        22
   Divergicin M35:        TKYYGNGVYCNSKKCWVDWGTAQGCID--VVIGQLGGGIPGKGKC        23
   Coagulin:               KYYGNGVTCGKHSCSVDWGKATTCIINNGAMAWATGGHQGTHKC        24
   Pediocin PA-1:          KYYGNGVTCGKHSCSVDWGKATTCIINNGAMAWATGGHQGNHKC        9, 10
   Piscicocin CS526:       KYYGNGLSxNKKGxTVDWGTAIGIIGNNAAANxATGGAAGxNK?        25
   Sakacin P:              KYYGNGVHCGKHSCTVDWGTAIGNIGNNAAANWATGGNAGWNK         13
   Listeriocin 743A:       KSYGNGVHCNKKKCWVDWGSAISTIGNNSAANWATGGAAGWKS         26
   Mundticin:              KYYGNGVSCNKKGCSVDWGKAIGIIGNNSAANLATGGAAGWSK         27
   Mundticin KS:           KYYGNGVSCNKKGCSVDWGKAIGIIGNNSAANLATGGAAGWKS         28
   Piscicolin 126:         KYYGNGVSCNKNGCTVDWSKAIGIIGNNAAANLTTGGAAGWNKG        29, 30
   Sakacin 5X:             KYYGNGLSCNKSGCSVDWSKAISIIGNNAVANLTTGGAAGWKS         31
   Leucocin C:             KNYGNGVHCTKKGCSVDWGYAWTNIANNSVMNGLTGGNAGWHN         32
2
   Leucocin A:             KYYGNGVHCTKSGCSVNWGEAFSAGVHRLANGGNGFW               7
   Mesentericin Y105:      KYYGNGVHCTKSGCSVNWGEAASAGIHRLANGGNGFW               20
   Lactococcin MMFII:      TSYGNGVHCNKSKCWIDVSELETYKAGTVSNPKDILW               33
   Sakacin G:              KYYGNGVSCNSHGCSVNWGQAWTCGVNHLANGGHGVC               34
   Plantaricin 423:        KYYGNGVTCGKHSCSVNWGQAFSCSVSHLANFGHGKC               35
   Plantaricin C19:        KYYGNGLSCSKKGCTVNWGQAFSCGVNRVATAGHGKx               36
3
   Curvacin A:            ARSYGNGVYCNNKKCWVNRGEATCSIIGGMISGWASGLAGM            15,16
   Carnobacteriocin BM1:AISYGNGVYCNKEKCWVNKAENKCAITGIVIGGWASSLAGMGH            37
   Enterocin P:         ATRSYGNGVYCNNSKCWVNWGEAKENIAGIVISGWASGLAGMGH           38
   Bacteriocin 31:        ATYYGNGLYCNKQKCWVDWNKASREIGKIIVNGWVQHGFWAPR          39
   Carnobacteriocin B2:  VNYGNGVSCSKTKCSVNWGQAFQERYTAGINSFVSGVASGAGSIGRRP      37
```

ساختار مربوط به باکتریوسین های IIa را می بینیم که قسمت N ترمینال آن به عنوان توالی رهبر و سپس منطقه اولاً وجود دارد که مربوط به حضور اسید آمینه تریپتوفان است. در انتهای C ترمینال بعضی از آن ها سیستئین بود که با سیستئین قرار گرفته در N ترمینال باند شده و پل های دی سولفیدی را ایجاد می کنند . در قسمت C ترمینال نیز یک قسمتی وجود دارد به نام دمین سنجاق سری(hairpia domain) که این قسمت در فضای داخل غشاء سلولی قرار گرفته و نقش مهمی را در تعیین سلول هدف ویژه به عهده دارد و این را از طریق موتاسیون های Site direction که در شرایط آزمایشگاهی انجام داده اند متوجه شده‌اند و به این دلیل که این hair pins واکنش‌هایی با لیپیدها و پروتئین‌های فضای داخلی غشاء سلولی دارند و یا اینکه با یک رسپتور خاص واکنش دارند.(1و6)



از این گروه Sakacin p را توضیح می دهیم که توسط Lactobacillus sake تولید می شود چندین ژن در بیوسنتز و ترشح این باکتریوسین خیل هستند که توسط یک یا دو اپرون سازماندهی می‌شوند .

SPPk : یک پپتید فرمون است .

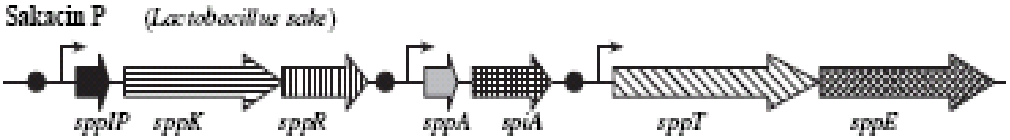
SPPR : تنظیم کننده حساس یا Nesponse Nequlatur

SPPA : ژن ساختمانی برای Pediocin-like است .

SPiA : پروتئین حفاظت کننده است و از اثر باکتریوسین روی سلول تولید کننده جلوگیری می‌کند و با اتصال و interaction با pediocin –like به آن اجازه فعالیت نمی دهد.

SPPT : پروتئین انتقال دهنده است و یک ABC transporter پروتئین است . در ارتباط با غشاء بوده و باکتریوسین را از غشاء عبور می دهد .

SPPE : پروتئین فرعی ارزیابی کننده و برای ترشح لازم است.



بدین طریق است که توسط ژن sPPA پیش ساز Sakacin تولید می شود . در قسمت N ترمینال آن توالی رهبری قرار دارد که با پروتئین های T واکنش دارد و شامل 30-15 اسید آمینه است . دو کار را انجام می دهد یکی اینکه باعث هدایت پیش ساز به بیرون می شود و دوم اینکه تا زمانی که وجود دارد مانع فعالیت Sakacin می شود .(2 و7)

Table 3. Known systems of production of class II bacteriocins

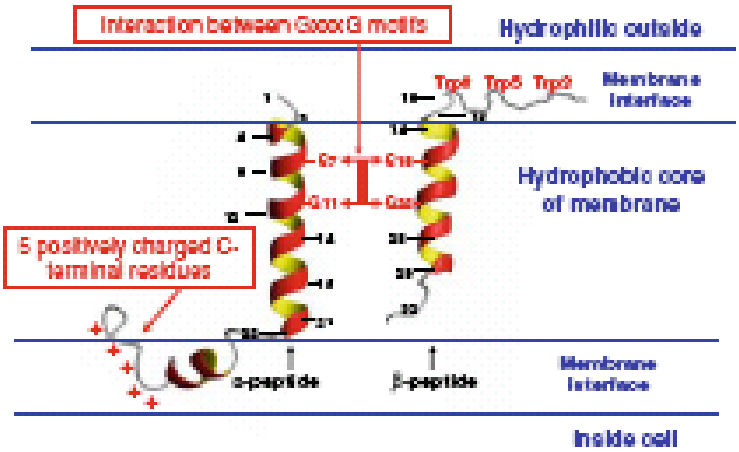
AMP	Organisms	BLP	PP	RR	SP	AP	T	I	Literature sources
Subclass IIa: Pediocin-like bacteriocins									3
Acidocin A	LA TK9201	*acdA*							54
Acidocin T (8912)	LA TK8912	*acdT*							55
Bavaricin A	LB								56
Bavaricin MN	LS								57
Divergicin A	CD	*dvnA*						*putative*	58
Divergicin V41	CD	*dvnV41*	*dvnK*	*dvnR*			*dvnT1*	*dvnT2, dvnI*	59
Carnobacteriocin CbnBM1	CP LV17	*cbnBM1*	*cbnK*	*cbnR*	*cbnB2*	*cbnD*	*cbnT*	*cbiBM1*	14
Carnobacteriocin CbnB2/Carnocin CP52	CP LV17	*cbnB2, cbnS*	*cbnK*	*cbnR*	*cbnB2*	*cbnD*	*cbnT*	*cbiB2*	22
Coagulin	BC	*coaA*				*coaC*	*coaD*	*coaB*	60
Curvacin A	LC	*curA*						*orf2*	61
Leucocin A[a]	LEG UAL187	*lcnA*					*lcaC, lcaD*	*orf2*	62
Leucocin B-Ta11a	LEC	*lcnB*						*putative*	63
Leucocin A-TA33a	LEM	*lcnS*					*lcnATP*	*lcnI*	64
Leucocin B-TA33a	LEM								64
Leucocin C-TA33a	LEM								64
Listeriocin	LI	*lisA*							65
Mesentericin B105	LEM	*mesB*							66
Mesentericin Y105	LEM Y105	*mesY*				*mesE*	*mesD*	*mesI*	67
Mundticin	EM								68
Pediocin AcH	PA H	*papA*					*papD*	*papB*	69
Pediocin PA-1[a]	PA PAC1.0	*pedA*					*pedD*		70, 71
Pneumocin	SP	*blpS, blpI, blpJ, blpK, blpM, blpN, blpO, blpU*	*blpH*	*blpR*	*blpC*	*blpB*	*blpA*	*blpL, blpX, blpY*	72
Sakacin A	LS Lb706	*sapA*	*sapK*	*sapR*	*orfX*	*sapE*	*sapT*	*saiA*	73
Sakacin P	LS LTH673/Lb674	*sppA*	*sppK*	*sppR*	*orfI*	*sppE*	*sppT*	*spiA*	19, 20
Enterocin A	EF	*entA, orf2*	*entK*	*entR*	*entF*	*entD*	*entT*	*entI*	15
Enterocin P	EF	*entP*							74

Two-peptide bacteriocin : IIb

این باکتریوسین ها به دو پپتیدی ها معروفند زیرا دو تا پروتئین متفاوت دارند که توسط ژن های پشت سر هم کد می شوند که این دو پروتئین در شکل دهی این باکتریوسین ها دخیل هستند و فعالیت آنتی باکتریالی آن ها به این دو پروتئین وابسته است. هر دو پروتئین ابتدا به فرم اولیه یا نابالغ تولید می‌شوند که دارای یک توالی در N ترمینال خود هستند. این توالی ها دارای دابل گلیسن هستند که در انتقال و فعال سازی باکتریوسین نابالغ بسیار نقش دارند .(6)

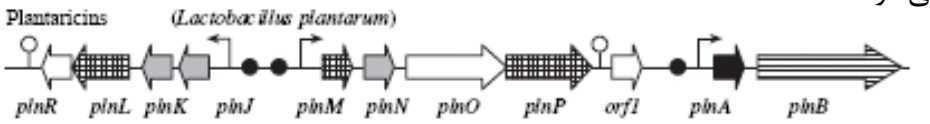
با توجه به شکل می توان دید که این دابل گلیسن ها به صورت GXXXG در طی تکامل در تمام توالی ها حفظ شده اند و هنگام بلوغ و انتقال باکتریوسین ها با پروتئین های غشایی interaction دارند .

در شکل مشاهده می کنید که دو پپتید در قسمت GXXXG با هم interaction دارند و هنگام انتقال از این قسمت شکست ایجاد می شود و از C ترمینال جدا می گردد . این توالی با پروتئین های انتقال دهنده interactionدارد و شاید باعث غیر فعال نگه داشتن آن تا زمان خروج شود .(8)

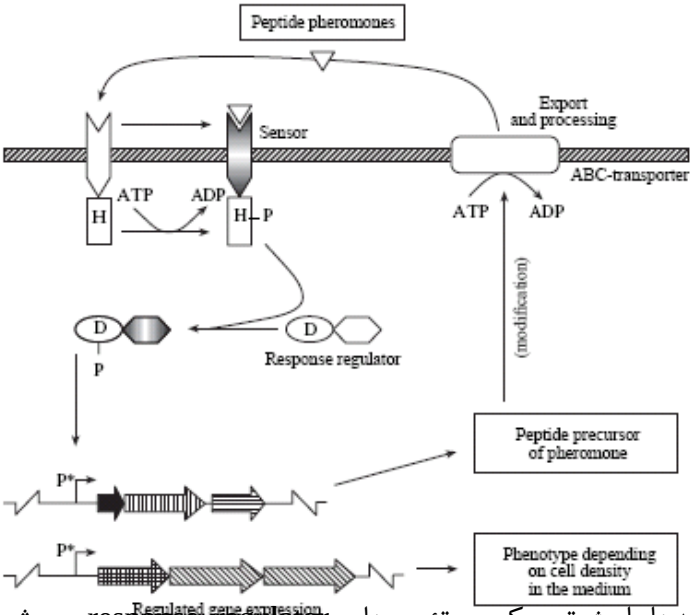


این باکتریوسین ها نیز مانند گروه های قبلی دارای ژن های ساختمانی، ایمنی و ... و دو ژن ساختاری مسئول تولید پروتئین های ساختمانی است. ژن های کد کننده پروتئین ایمنی نیز در حفاظت از سلول تولید کننده نقش دارند این باکتریوسین ها ژن های کد کننده پروتئین های فرعی که در انتقال کمک می کند و نیز ژن های دی کد کننده پروتئین های تنظیمی را به همراه دارد که در این گروه تنظیم بیوسنتز باکتریوسین توسط فرمون پپتیدها، هستیدین کیناز متصل به غشاء و تنظیم کننده های دیگر تنظیم می شود .

از این گروه ژن های plantaricin j/k را مثال زدیم که توسط *lactobacillus plantarum* تولید می‌شود.



ماکزیمم فعالیت این باکتریوسین ها در حضور مساوی هر دو پپتید است . همانطور که گفته شد دارای دابل گلیسن در انتهای N ترمینال خود هستند و از طریق ABC transporbers انتقال پیدا می‌کنند . دابل گلیسین ها با این ABC transporbers واکنش دارند و پس از انتقال در این قسمت شکست ایجاد می شود .



فرمول پپتیدها باعث تحریک پروتئین های response regulator می شوند و رونویسی از ژن ها را فعال می کند، پس از تولید باکتریوسین از طریق ABC transporbers که در کنار غشاء سلول قرار گرفته اند به بیرون منقل می شوند .(2 و7)

مدل فعالیت این باکتریوسین ها به این صورت است که باعث القاء نفوذ پذیری غشاء سلول هدف می شود ولی هر باکتریوسین نفوذ پذیری به یون های خاص را باعث می شوند مثلاً lactococcinG غشاء سلول هدف را نسبت به $Rb^{+},Cs^{+},Li^{+},K^{+},Na^{+}$ نفوذپذیر می کند و به Mg^{2+},H^{+} و فسفات اجازه عبور نمی دهد ولی بر عکس plantaricin j/k باعث افزایش نفوذ پذیری

غشاء نسبت به H^+ می شود که با این عمل سلول هدف تعادل خود را از دست داده و متلاشی می‌گردد.(8 و6)

AMP	Organisms	BLP	PP	RR	SP	AP	T	I	Literature sources
Plantaricin EF (plnE + plnF)	LP C11	*plnE, plnF*	*plnB*	*plnC, plnD*	*plnA*	*plnH*	*plnG*	*plnI*	21
Plantaricin JK (plnJ + plnK)	LP C11	*plnJ, plnK*	*plnB*	*plnC, plnD*	*plnA*	*plnH*	*plnG*	*plnL*	21
Plantaricin S (plsA + plsB)	LP	*plsA, plsB*	*plsK*	*plsR*					82
Thermophilin 13 (ThmA + Thm B)	ST	*thmA, thmB*							83
Enterocin 1071 (Ent1071A + Ent1071B)	EF	*ent1071A, ent1071B*							84

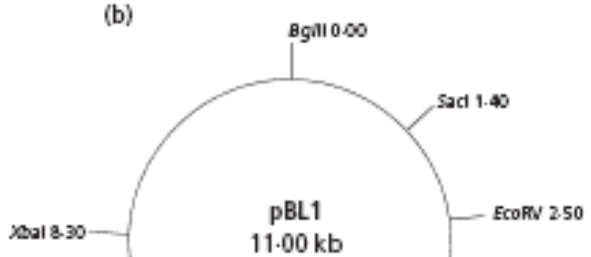
AMP	Organisms	BLP	PP	RR	SP	AP	T	I	Literature sources
Subclass IIb: Two-component bacteriocins									3
Acidocin J1132 (β + α)	LA								75
Gassericin T	LG	*gatA, (gatX)*						*orf6*	76
Lactacin F (LafF + LafX)	LJ VPI 11088	*lafF, lafX*							77
Lactobin A	LAM								78
Lactococcin G (LagA + LagB)	LL	*lagA, lagB*					*lagD, lagE*	*lagC*	79, 80
Lactococcin MN	LL	*lcnM, lcnN*							81

the sec dependent bacteriocin : IIc

باکتریوسین هایی که در این گروه قرار می گیرند بسیار متفاوت هستند این تفاوت هم در بین خود اعضای این گروه است و هم با باکتریوسین های سه گروه دیگر. باکتریوسین های این گروه اکثراً فقط ژن های ساختاری و ژن های ایمنی را دارند و ژن های دخیل در سیستم انتقال در آن ها وجود ندارد و یا ژن های تغییر دهنده و ...

باکتریوسین هایی که تا الان بررسی کردیم دارای توالی هایی در N ترمینال خود بودند که توسط ABC transporters قابل تشخیص بودند و از طریق پروتئین های کد شده ویژه ای انتقال پیدا می کردند ولی باکتریوسین های این گروه در N ترمینال خود توالی هایی را دارند که توسط سیستم ترشحی عمومی قابل شناسایی هستند و به بیرون ترشح می شوند . بعضی از اعضاء این گروه تک پپتیدی بوده و برخی دو پپتیدی هستند .(6،2و9)

باکتریوسین هایی که در این گروه قرار می گیرند بیشتر توسط باکتری های Propionic Acid تولید می شوند و در انتهای N خود دارای توالی های قابل شناسایی توسط سیستم عمومی ترشحی هستند .



AMP	Organisms	BLP	PP	RR	SP	AP	T	I	Literature sources
Subclass IIc: Other bacteriocins									3
Carnobacteriocin A/Piscicolin 61	CP	*cbnA*	*cbaK*	*cbaR*	*cbaX*	*cbaC*	*cbaT*	*cbiA*	13, 14, 22
Enterocin B	EF								85, 86
Enterocin L50 (L50A + L50B)	EF								87
SLUSH A, B, C	SL								88
AGS-1, 2, 3	SH								3
Bovicin 225	Str LRC 0225	*bovicin*							89
Lactococcin A	LL	*lcnA*						*lciA, lciB, lciM*	90, 91
Acidocin B									92
Gassericin A	LG	*gaaA*							93
Lactococcin 972	LL	*lclA*					*orf07*	*lclB*	94
Curvaticin FS47	LC								95
Plantaricin 1.25 beta (PlnB)	LP	*plnB*							96
Plantaricin N	LP C11	*plnN*	*plnB*	*plnC, plnD*	*plnA*	*plnH*	*plnG*	*plnM (plnP)*	21

Unclassified small heat-stable non-lanthionine bacteriocins: IId

باکتریوسین های کوچک مقاوم به حرارت و غیر لانتیونین که در سه گروه گفته شده تقسیم بندی نمی‌شوند . این گروه از باکتریوسین بسیار جدید هستند و توضیحات کاملی در مورد ژنوم و ساختارهای پروتئین آن ها بیان نشده است و متأسفانه اعضای این گروه و نه ژنوم آن ها در دست نیست فقط یکی از اعضاء این گروه به نام thuricin-17 است که آزمایشات جالبی روی آن انجام داده‌اند طی آزمایشات صورت گرفته مشخص شده که این باکتریوسین بر رشد گیاهان چه دو لپه و چه تک لپه تأثیر مثبت دارد .

thuricin-17 توسط NEB_{17} *Bacillus thuringiensis* تولید می شود . همان طور که می دانید این باکتری ساکن خاک است و نزدیک به ریشه گیاهان وجود دارد . این باکتری در محیطی که قرار دارد نسبت به باکتری هایی که در پیرامون آن ها وجود دارد باکتریوسین تولید می کند یکی از آن ها به نام thuricin-17 است . اگر چه این باکتریوسین بر روی دیگر باکتری ها خاصیت باکتریوسیدی دارد ولی بر روی ندول زایی گیاهان تأثیر بسیار مثبتی دارد. با تحقیقاتی که انجام داده اند و با ساخت پرایمرهای ویژه توانسته اند ژن های کد کننده این باکتریوسین روی *Bacillus thuringiensis* را موقعیت یابی بکنند و مشخص شده که این پروتئین توسط سه ژن کد می شوند که در واقع یک ژن با سه کپی است که در ژنوم باسیلوس قرار دارد .

هر کدام از این ژن ها یک پپتید را کد می کند که این پپتید از 39 اسید آمینه تشکیل شده که 8 تا از این اسیدهای آمینه به عنوان توالی رهبر هستند و با جدا شدن این توالی 31 اسید آمینه دیگر تشکیل thuricin بالغ را می‌دهند .

ORF prediction: **<u>ETPVVQPR</u>DWTCWSCLVCAACSVELLNLVTAATGASTAS (4054.85Da).**

Mature peptide: **DWTCWSCLVCAACSVELLNLVTAATGASTAS (4054.85Da).**

تحت شرایط گلخانه ای اثر این باکتریوسین را روی ندول زایی گیاه سویا و ذرت بررسی کردند در شکل تأثیر این thuricin را روی تارهای کشنده مشاهده می کنیم شکل I_b,I_a کنترل هستند این که چرا سه کپی از این ژن وجود دارد را به تکامل آن در باکتری ربط می دهند که بر حسب فشارهای محیطی وارد شده به باکتری نیاز به تولید این باکتریوسین برای باکتری بیشتر بوده که با افزایش تعداد کپی ها که در اثر جهش رخ داده این سویه بقاء یافته است.(10)

کلاس III: large heat- labile bacteriocins

این کلاس شامل آن دسته از باکتریوسین هایی است که اندازه ای بزرگتر از 10KD دارند و به طور کلی این کلاس از باکتریوسین ها حساس به حرارت هستند ولی استثناء هایی نیز در میان آن ها وجود دارد مثلاً propionicin SM_1 که جزء این کلاس دسته بندی می شود نسبت به حرارت مقاوم است . می توان این پروتئین های بزرگ را به دو گروه تقسیم بندی کرد .

IIIa : پروتئین‌های باکتریولتیک و باکتریولیزین‌ها : این دسته از باکتریوسین‌ها با لیز سلول‌های حساس باعث کشته شدن آن ها می شوند . پروتوتیپ این گروه lysostaphin است و توسط *staphylococcus simulans* biovar *staphylolyticus*

ژن کد کننده لیزواستافین روی پلاسمید قرار دارد که یک آندوپپتیداز گلسین- گلسین را کد می کند سلول های حساس را به وسیله هیدرولیز پنتاگلسین قرار گرفته در پپتیدوگلیکان از بین می‌برد .

لیزواستافین ابتدا به صورت یک پپتید 493 اسید آمینه ای تولید می شود که پس از بلوغ به 246 اسید آمینه می رسد 36 اسید آمینه اولی در N ترمینال آن مسئول ترشح آن به بیرون هستند . 195 اسید آمینه از آن در 15 توالی 13 اسید آمینه ای پشت سر هم تکرار شده اند. پس از ترشح با حذف بعضی از توالی ها توسط پروتئاز باعث فعال شدن لیزواستافین شده که پس از فعال شدن C ترمینال آن مسئول اتصال به پپتیدوگلیکان است و N ترمینال نیز مسئول فعالیت کاتالیکی آن است. ژن مربوط به ایمنی نیز روی پلاسمید قرار گرفته است . به دلیل این که لیزواستافین توانایی از بین بردن اعضای متنوعی از استافیلوکوک‌ها را دارد بنابراین برای انسان و حیوانات بسیار مهم هستند و بنابراین این باکتریوسین ها کاربردهای پزشکی وکشاورزی زیادی دارند .(11)

IIIb : بسیاری از آنتی باکتری های بزرگ نیز شناسایی شده اند که خاصیت لیز سلول هدف را ندارند اینها روی انتقال و حرکت پروتون ها تأثیر می گذارند و باعث کاهش ATP درون سلول و مرگ سلول می شوند .

باکتری های gr^-

باکتری های gr^- طیف گسترده ای باکتریوسین ها را تولید می کنند که بر اساس اندازه می توان آن ها را به سه دشت تقسیم بندی کرد .

1 -Colicin-like, Colicin: که اندازه آن ها 25-80KD می باشد و توانایی القاء سیستم SOS را دارند .

2 -Microcins : بسیار کوچک هستند (کمتر از 10KD) و القاء کننده سیستم SOS نیستند .

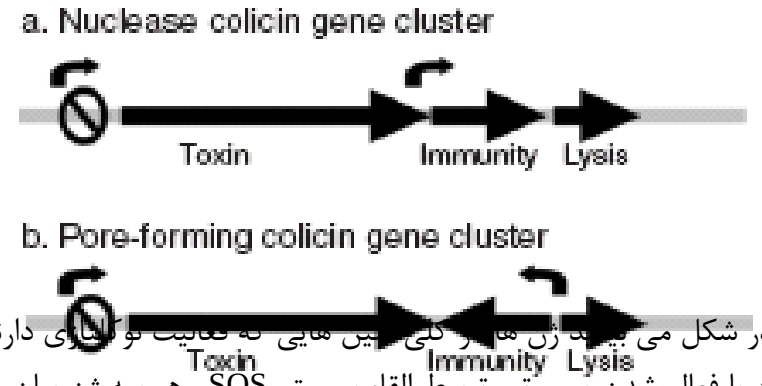
3 -Phage tail –like : اجتماعی از پپتیدهای چند وجهی، میله ای شکل مقاوم به نوکلئاز و پروتئاز هستند و سلول‌های حساس را به وسیله دپلی مریزاسیون و غشاء سلولی از بین می‌برند.

Colicins و شبه Colicins

کلی‌سین ها گروه متنوع از باکتریوسین های بزرگ القاء کننده سیستم SOS هستند که توسط اشرشیاکولی تولید می شوند ژن های کد کننده کلی سین ها در پلاسمید یافت شده و انواع متعددی از آن ها وجود دارد . دیگر اعضای خانواده انتروباکتریاسه‌ها، باکتریوسین هایی تولید می کنند که از لحاظ ساختاری و عملکرد شبیه به کلی سین هستند این باکتریوسین ها به Colicin like یا CIB_s معروف هستند .

ژن های کد کننده Colicin

سه ژن در بیوسنتز کلی‌سین نقش دارد که روی پلاسمید باکتری قرار گرفته اند این سه ژن شامل ژن های کد کننده توکسین، پروتئین های ایمنی و لیز کننده هستند. توکسین تولید شده عمدتاً برای کشتن سلول های هدف فعال است . پروتئین تولید شده توسط ژن های ایمنی نیز مسئول حفظ دفاع از سلول در برابر کلی‌سین تولید شده در خود سلول است . این پروتئین به سایت های فعال کلی‌سین باند شده و مانع از فعالیت آن می شود .



همان طور که در شکل می بینید ژن های کلی سین هایی که فعالیت نوکلئازی دارند در یک جهت هستند چون با فعال شدن پروموتور توسط القاء سیستم SOS ، هر سه ژن بیان می شوند

و به پروتئین ایمنی نیاز است تا از فعالیت نوکلئازی کلی سین جلوگیری کند ولی در کلی سین هایی که از طریق تولید سوراخ در سلول هدف کار خود را انجام می دهند ژن تولید کننده Pr^- ایمنی بر خلاف جهت ژن های دیگر قرار دارد و تولید این پروتئین در زمان تولید باکتریوسین نیازمند نیست و فقط زمانی که تولید باکتریوسین به حداکثر میزان خود رسید تولید می شود .

پروتئین کلی سین و شبه کلی سین دارای سه دمین هستند .

دمین N ترمینال: translocation

دمین مرکزی : receptor binding برای جذب توسط سلول هدف ضروری می باشد پس برای کشتن سلول های اختصاصی لازم است.

دمین C ترمینال : killiny domains برای فعالیت کشندگی کلی سین لازم است.

کلی سین ها از پروتئین های غشاء خارجی برای باند شدن با سلول هدف استفاده می کنند این پروتئین های غشاء خارجی به طور تیپیک همان پورین ها هستند و به طور فیزیولوژیکی در سلول با انتقال متابولیت های کوچک در ارتباط هستند .

پروتئین غشاء خارجی (OmpF)F توسط بسیاری از کلی سین ها برای باند شدن مورد استفاده قرار می گیرد و به طور طبیعی برای انتقال قند ها ، یون ها و اسیدهای آمینه کوچک مورد استفاده قرار می گیرد .یا BtuB,FepA که در انتقال آهن و ویتامین B_{12} نقش دارند و با بعضی از کلی سین ها باند می شوند .

حال بعد از اینکه اتصال صورت گرفت باید از میان پری پلاسم عبور بکند که این هم از طریق interaction با کمپلکس های Tol یا Ton که از پروتئین های پری پلاسمیک هستند صورت می گیرد.

کلی سین ها به روش های مختلفی سلول هدف خود را می کشند .

1. بوسیله تشکیل سوراخ هایی در سطح سلول هدف
2. فعالیت نوکلئازی یا به وسیله شکست و از هم گسیختن دیواره سلولی

کمپلکس Tol از 5 پروتئین تشکیل شده به نام های Pal,TolB,TolA,TolR,TolQ (پپتید و گلیکان مرتبط با لیپوپروتئین) است و سیستم Ton نیز 3 پروتئین به نام های TonB,ExbB و BxbD دارد که موتاسیون در هر کدام از این پروتئین ها باعث ایجاد اختلال در روند انتقال سلول خواهد شد. پس از اینکه کلی سین توسط یکی از این کمپلکس ها از پری پلاسم گذشت و وارد سیتوپلاسم شد دمین کشنده سلول هدف را از بین می برد از طریق تأثیراتی که شامل

دپلاریزاسیون غشاء سیتوپلاسمی (مثل کلی سین های $A,B,E_1,Ia,Ib,\ldots$) فعالیت های DNA آزی (E_8,E_7,E_2) و RNA آزی $E_{3,4}$ و یا جلوگیری از سنتز مورین (مثل کلی سین M) (11).

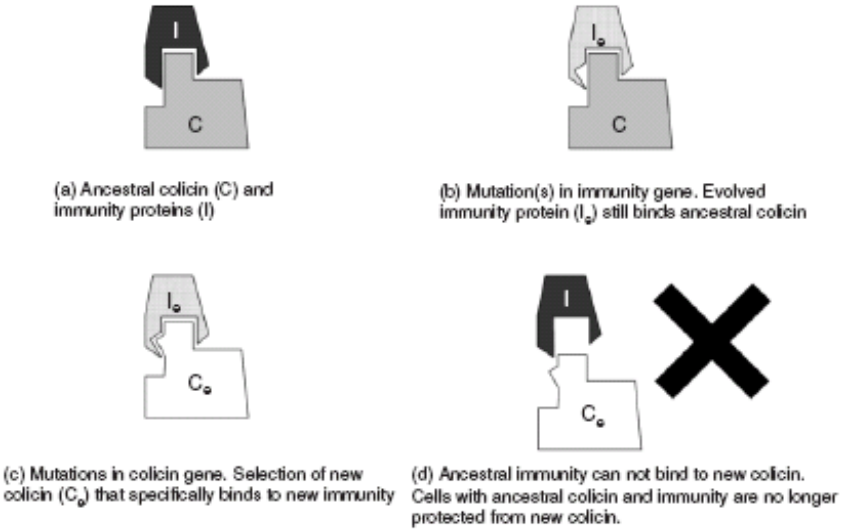
مدل های تکامل باکتریوسین ها:

برای بررسی تکامل باکتریوسین های تولید شده توسط باکتری ها، تکامل کلی سین ها مورد بررسی قرار گرفته که به دیگر باکتریوسین ها هم ارجاع داده می شود .

دو مدل برای بررسی تکامل کلی سین ها پیشنهاد شده است:

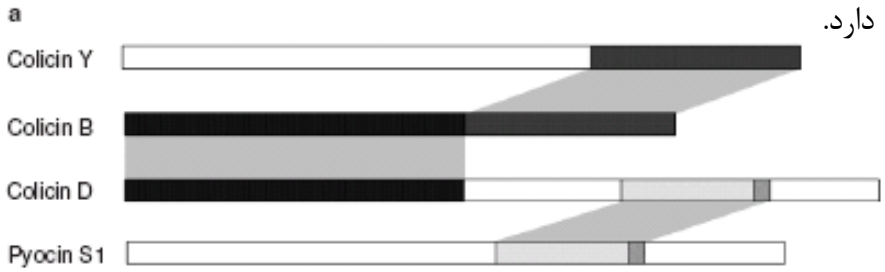
1. **مدل Diversifying selecticin** : این مدل برای کلی سین های به کار برده می شود که فعالیت نوکلئازی دارند و پروتئین ایمنی در بقاء سلول تولید کننده نقش مهمی دارد.آن هایی که به این فرضیه اعتقاد دارند بر این باور هستند که diversificaticin طی دو مرحله صورت گرفته است . ابتدا یک موتاسیون نقطه ای در ژن مربوط به ایمنی رخ می دهد که با ایجاد این تغییر آنهایی انتخاب می شوند که با این پروتئین تغییر یافته هماهنگی داشته باشند. مرحله دوم به این ترتیب است که در ژن مربوط به کلی سین موتاسیون رخ می دهد و یا این موتاسیون پروتئینی تولید می شود که با پروتئین جهش یافته قبلی هماهنگی دارد و در واقع یک Superkiller را ایجاد می کند. این Superkiller باکتری های اجدادی را می کشد چون در مقابل آن ایمنی وجود ندارد و سلول جدید در مقابل آن ایمنی خواهد داشت.

عاملی که باعث افزایش موتاسیون ها در این رابطه می شود می تواند همان سیستم SOS باشد . چون کلی سین ها القاء کننده سیستم SOS هستند و تحت این سیستم نیز ژن های تولید کننده آن ها به سرعت همانند سازی، رونویسی و ترجمه می شود . پس هنگامی که سلول تحت شرایط استرس قرار می گیرد و سیستم SOS القاء می شود باعث فعال شدن پروموتور ژن کلی سین شده و همانند سازی ، رونویسی و ترجمه از آنها آغاز می شود .که با این عمل ممکن است در هنگام همانند سازی یا رونویسی موتاسیون هایی رخ دهد که این موتاسیون ها باقی مانده و باعث تغییر در پپتید حاصله می‌شود که در تکامل کلی سین ها نقش خواهد داشت.(11)



2. **مدل Diversifying Recombination** : این مدل برای کلی سین هایی در نظر گرفته می شود که از طریق ایجاد سوراخ باعث اثر روی سلول هدف می شود. قبل از این که در مورد این مدل صحبت کنیم ابتدا در مورد همولوژی که ممکن است در ژن های کلی سین وجود داشته باشد صحبت می کنیم و دسته بندی که برای آنها در نظر شده است.

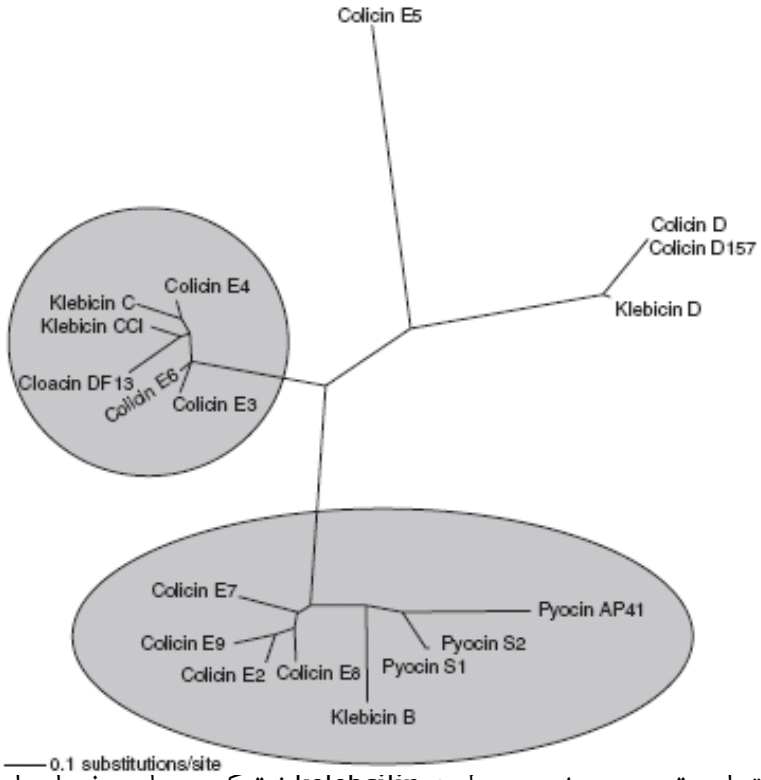
بر طبق تصویر زیر بین قسمت هایی از ژن های کلی سین ها و شبه کلی سین ها همولوژی هایی وجود دارد.



دسته بندی های صورت گرفته است و باکتریوسین هایی که از لحاظ دمین کشنده نسبت به هم همولوژی داشته اند نمایش داده شده است.

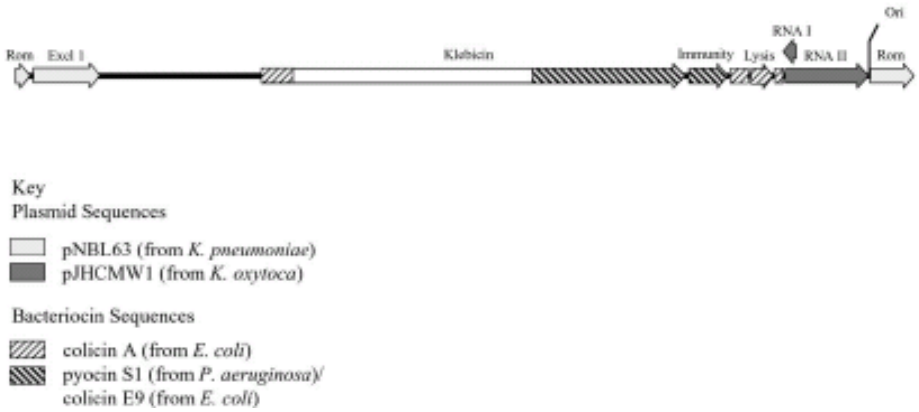
حال براساس این همولوژی هایی که وجود دارد گاهی اوقات نوترکیبی هایی بین این ژن ها صورت گرفت که باعث ایجاد ژنوتیپ جدید در بین کلی سین ها خواهد شد .

به عنوان مثال تصویر زیر نشان دهنده نوترکیبی هایی است که ممکن است بین کلی سین ها و CIBs ها رخ بدهد در نقاطی که با هم همولوژی دارند .



طبق این تصویر در ژن مربوط به kelebcilin نوترکیبی های رخ داده است که چهره این ژن را کاملاً دگرگون کرده و ژنوتیپ کاملاً متفاوت از حالت اولیه ایجاد شده است. این ژن روی پلاسمید NBL63 قرار گرفته در اثر نوترکیبی با ژنی که روی پلاسمید $JHCMW_1$ قرار گرفته قطعه ای از ژن دوم به این ژن اتصال پیدا کرده و پس نوترکیبی‌های دیگری بین این ژن و دیگر کلی‌سین‌ها و پیوسین‌های دیگری رخ داده و چهره جدید به ژن داده است و پلاسمید جدیدی به نام کلی سین $k_{17}go$-B را ایجاد کرده است. با توجه به شکل می‌بینید که قسمتی از ژن باکتریوسین با colicinA، $pyocins_1$، colicinE9 و نوترکیبی رخ داده و klebicinB جدیدی را ایجاد کرده است.

pKlebB-K17/80



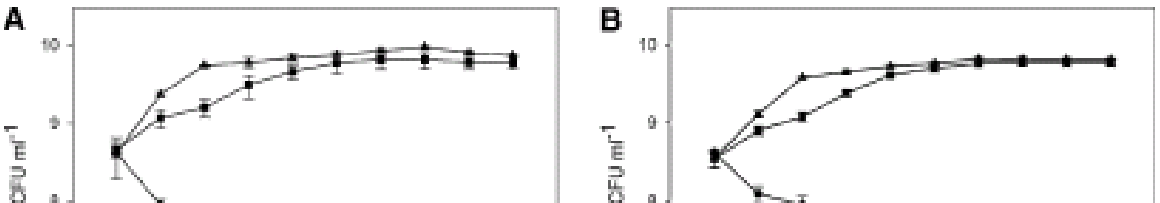
بررسی کاربردهای باکتریوسین ها

همان طور که می دانید هنگام به کار گیری آنتی بیوتیک ها برای جلوگیری از رشد باکتری ها گاهی اوقات این باکتری ها نسبت به این آنتی بیوتیک ها مقاوم می شوند و دیگر تأثیری روی باکتری نخواهد داشت . بیش از 35 سویه از *staphylococcus aureus* جدا شده اند که نسبت به پنی سیلین مقاوم شده اند . سویه هایی هم از *Enterococcus faecalis* مشاهده شده اند که وانکوماسین مقاوم شده اند. حال مسئله و مشکلی که وجود دارد کاربرد آنتی بیوتیک ها علیه این سویه های مقاوم است . دانشمندان طی تحقیقاتی که انجام داده اند توانسته اند از *Bacillus pumilus* سویه WAPB4 باکتریوسینی به دست بیاورند که بر روی این سویه های مقاوم به پنی سیلین و وانکومایسین تأثیر مثبت داشته و باعث از بین رفتن آن ها شده است .

باکتریوسین تولید شده Pumilicin4 بوده که در جدول زیر تأثیر آن را بر روی باکتری های مختلف می بینید. باید به نکته ای اشاره کنم که اگر یک باکتریوسین توسط باکتری gr+ تولید بشود اثر این باکتریوسین بیشتر بر روی باکتری های gr+ خواهد بود. این باکتریوسین تولید شده نسبتاً به دما مقاوم است و حتی در شرایط اتوکلاو هم باقی مانده است و همچنین رنج وسیعی از PH را نیز می‌تواند تحمل بکند.

Indicator organism	Source[a]	Growth medium	Incubation temperature	Inhibition[b]
Gram-positive bacteria				
Bacillus cereus	ATCC14579	TSA	30°C	w
Bacillus licheniformis	WP Laboratory	TSA	30°C	++
Bacillus megaterium	ATCC12872	TSA	30°C	++
Bacillus subtilis MI111	WP Laboratory	TSA	37°C	++
Bacillus thuringiensis ssp. *aizawi*	WP Laboratory	TSA	30°C	+
Bacillus thuringiensis ssp. *israelensis*	WP Laboratory	TSA	30°C	++
Citrobacter freundii	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Enterococcus faecium	DMST18565	BHI	37°C	++
Vancomycin resistant *E. faecalis* (VRE)	WP Laboratory	BHI	37°C	++
Lactobacillus plantarum	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Lactobacillus lactis	WP Laboratory	MRS	37°C	
Lactobacillus farciminis	WP Laboratory	MRS	37°C	
Lactobacillus sakei	WP Laboratory	MRS	37°C	
Staphylococcus aureus	DMST4737	MRS	37°C	+
Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)	DMST5199	TSA	37°C	++
MRSA1297	WP Laboratory	TSA	37°C	++
MRSA1302	WP Laboratory	TSA	37°C	++
MRSA1304	WP Laboratory	TSA	37°C	++
Pediococcus pentosaceus	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Gram-negative bacteria				
Escherichia coli	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Klebsiella pneumoniae	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Proteus mirabilis	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Proteus rettgeri	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Pseudomonas amylodermosa	ATCC21262	TSA	37°C	–
Salmonella typhi	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Salmonella paratyphi A	WP Laboratory	TSA	37°C	–
Salmonella typhimurium	ATCC13311	TSA	37°C	–
Salmonella enteritidis	WP Laboratory	TSA	37°C	–

پس به طور تجاری می توانند این باکتری یا فراورده آن را تولید کرده و برای از بین بردن این سویه های مقاوم استفاده کنند طبق این دو نمودار فعالیت این باکتریوسین را علیه MRSA و VRE نشان داده اند . نمودار اول نشان دهنده اثر Pumilicin4 روی MRSA می باشد و نمودار دوم تأثیر آن روی سویه های VRE می باشد. (14)



* طبق تحقیقاتی که صورت گرفته بعضی از کلی سین ها روی سلول های سرطانی تأثیر گذاشته و باعث از بین رفتن این سلول ها می شوند. این که چه مکانیزمی باعث می شود که کلی سین ها روی سلول های یوکاریوتی سرطانی اثر بگذارند هنوز مشخص نشده . یکی از این کلی سین ها کلی سین E_3 است که یک RNA آز می باشد. با آزمایش این کلی سین روی موش های آزمایشگاهی سالم مشخص شد که حتی باورود به درون سلول های سالم خاصیت RNA آز ندارد ولی در سلول های سرطانی پس از ورود باعث شکست 18SrRNA می شود و سلول را از بین می برد. کلی سین های دیگر موثر بر سلول های سرطانی U,E_1,A,E_5 می باشند نکته جالبتری وجود دارد این است که خاصیت ضد توموری این کلی‌سین‌ها در سلول های توموری حیوانی بیشتر از سلول های انسانی است. اینکه چه مکانیزم هایی در این امر دخیل هستند هنوز مشخص نشده است (13).

از باکتریوسین ها می توانند به عنوان نگهدارنده های زیستی در صنایع غذایی استفاده بکنند. اصلاح اقتصاد که در صنایع غذایی در اثر ضایع شدن مواد غذایی صورت می گیرد می تواند توسط کاهش پاتوژن های میکروبی درون مواد غذایی صورت بگیرد . اصلاح مشکلات میکروبی در صنایع غذایی راه های متفاوتی دارد که یکی از آن ها استفاده از نگهدارنده ها در برابر این پاتوژن هاست.

در صنایع غذایی بیشتر از باکتریوسین های تولید شده توسط باکتری های اسید لاکتیک استفاده می شود به دلیل چندین خصوصیتی که دارند :

1. از لحاظ ژنتیکی که بررسی شده‌اند مواد سالمی قلمداد شده‌اند که برای سلامتی ما ضرری ندارند.
2. برای سلول های یوکاریوتی سمی نیستند و علیه آن ها فعال نمی شوند .
3. توسط پروتئاز غیر فعال می شوند پس روی میکروفلور معده تأثیری نخواهد داشت .
4. معمولاً نسبت به PH و دما مقاوم هستند .
5. محدوده آنتی باکتریابی آن ها محدود است.
6. از لحاظ ژنتیکی که بررسی شده اند بیشتر روی پلاسمید قرار دارند به همین دلیل دستکاری آن ها آسانتر خواهد بود .

حال کاربرد نگهدارنده های زیستی در صنایع غذایی می تواند فواید زیر را داشته باشد .

1. از کابرد نگهدارنده های شیمیایی در صنایع غذایی جلوگیری می شود . طبق بررسی هایی که صورت گرفته بسیاری از این نگهدارنده های شیمیایی برای انسان مضر هستند و خاصیت سرطان زایی دارند و یا عوارض دیگری خواهند داشت به عنوان مثال یکی از این نگهدارنده ها کلسیم پروپیونات است که با تولید نیتریت باعث ایجاد سرطان معده می شود .

یا از بیسفنول استفاده می شود که طی بررسی های صورت گرفته این ماده اثرات مضری روی مغز خواهند داشت.

2. همان طور که گفتیم باکتریوسین ها به دما مقاوم هستند پس می توانند در شرایط دمایی بالا که برای مواد غذایی استفاده می شود باقی بمانند .

3. اینکه خطر سرایط و انتقال پاتوژن های مواد غذایی را در طی زنجیره غذایی کاهش می دهند.

4. ضررهای اقتصادی که در صنایع غذایی وجود دارد بهبود می بخشد.

و فواید بسیاری که برای همه آشکار هستند .

* حال شرایطی هم وجود خواهد داشت که کاربرد باکتریوسین ها به عنوان نگهدارنده می تواند تأثیر داشته باشد .مثلاً ترکیب مواد شیمیایی با باکتریوسین ها می تواند روی فعالیت آن ها تأثیر مثبت یا منفی داشته باشد مثلاً حضور Nacl فعالیت آنتی میکروبیالی enterocin AS-48,leucocinF$_{10}$ را افزایش می دهد و بر خلاف آن فعالیت pediocin$_{10}$, leucocin $_{40}$ را کاهش می دهد.

* کاهش محتوای نیتریت به وسیله اضافه کردن باکتریوسین ها ممکن است یک امر مفید در صنایع غذایی باشد. ترکیب نایسین و نیتریت باعث به تأخیر انداختن شکل گیری سم بوتولیسم در گوشت شده و نیز باعث می شود که اندوسپورهای کلستریدیوم زودتر رشد بکند و سپس باکتریوسین از بین بروند. اسیدهای ارگانیک و نمک های آن ها می توانند پتانسیل فعالیت باکتریوسین ها را افزایش بدهند.

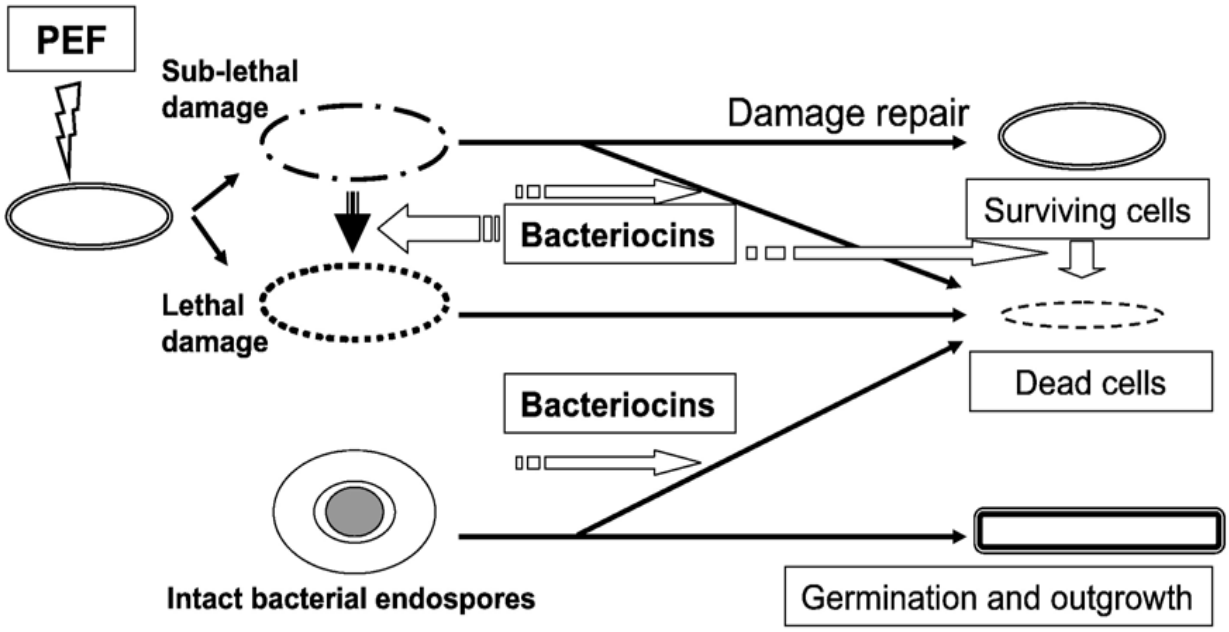
با استفاده از این اسیدها و کاهش PH ممکن است باعث translocation مولکول های باکتریوسین از دیواره سلولی و افزایش حلالیت باکتریوسین در این شرایط شود .

در حضور لاکتات و ترکیب نایسین با آن حساسیت لیسیتریا منوسیتوژنز به Nisin افزایش پیدا می کند .

*نکته دیگر این که اضافه کردن نایسین به شیر می تواند باعث از بین رفتن لیسیتریا منوسیتوژنز مقاوم به حرارت در شیر شود. حضور نایسین باعث می شود که در دمای حدود $55C^0$ لیستریاهای مقاوم به حرارت از بین بروند.

* به کار بردن ضربه های الکتریکی نیز می تواند فعالیت باکتریوسین ها را افزایش بدهد و ترکیب این تکنولوژی با باکتریوسین‌ها در صنایع غذایی فعالیت ضد میکروبی آن ها را افزایش می‌دهد.

کاربرد ضربه الکتریکی باعث اثر روی باکتری شده و باعث ایجاد آسیب های کشنده یا تقریباً کشنده می شود . آن هایی که آسیب کشنده دیده اند که از بین می روند ولی آن هایی که ضربه کمی دیده اند در حضور باکتریوسین از بین می روند و یا اینکه تعمیر می شوند که باز این سلول ها باقی مانده نیز تحت تأثیر باکتریوسین از بین می روند . حتی این ضربه های الکتریکی ممکن است باعث رشد اندوسپور شده که هنگام رشد ممکن است تحت تأثیر باکتریوسین از بین بروند و یا اینکه رشد صورت بگیرد .



* باکتریوسین ها تحت تأثیر فشارهای هیدرواستاتیک بالا هم قرار می گیرند .

طبق جدول زیر می توان تأثیر همکاری فشارهای هیدرواستاتیک و باکتریوسین ها را در صنایع غذایی در هنگام تولید آب میوه ها ، شیر و فراورده های گوشت های بسته بندی شده ، تخم مرغ های مایع و ... مشاهده کرد .(15و4)

Reported effects on the application of bacteriocins and high tydrostatic pressure (HHP) for bacterial inactivation

Bacteriocin	Observed effects
Nisin	Increased inactivation of B. coagulans, B. subtilis and Clostridium spores Increased bactericidal activity and spectrum (E. coli, S. enteritidis, S. typhimurium, S. sonnei, S. flexneri,P. fluorescens and S. aureus) Increased inactivation of bacteria associated with milk (E. coli, P. fluorescens, L. innocua, and L. viridescens) Increased sensitivity of pressure-resistant E. coli Strong synergistic effects against L. plantarum and E. coli at reduced temperature Improved bactericidal effect on spores and aerobic mesophilic bacteria in cheese Increased inactivation of B. cereus spores and inhibition of the surviving fraction in cheeseIncreased inactivation of L. monocytogenes Scott A in cheese inoculated with a nisin-producing strain Increased inactivation of E. coli and L. innocua in liquid whole egg In a meat model system, nisin reduced viable counts of E. coli, reduced growth of S. aureus, and suppressed slime-producing bacteria
Pediocin AcH	Increased inactivation of food spoilage and pathogenic bacteria (S. aureus, L. monocytogenes, S. typhimurium, E. coli O157:H7, L. sakei, L. mesenteroides, S. liquefaciens, and P. fluorescens)suspended in peptone water Increased cell lysis through cell wall degradation in L. mesenteroides Reduction of L. monocytogenes viable counts and inhibition of proliferation during storage in meat model system
Pediocin AcH+nisin	Increased inactivation of S. aureus, L. monocytogenes Scott A, Salmonella Thyphimurium and E. coli O157:H7 Killing of Clostridium spores induced to germinate
Sakacin K, enterocins A and B	Reduction of L. monocytogenes viable counts and inhibition of proliferation during storage in meat model system
Lacticin 3147	Increased inactivation of L. monocytogenes and S. aureus in milk and in whey

REFERENCES

1.Gunnar Fimland,Line Johnsen,Bjqrn Dalhus,Jon Nissen- Meyer(2005).Pediocin-like antimicrobial peptides (class IIa bacteriocins) and their immunity proteins: biosynthesis, structure and mode of action.Journal of Peptide Science 11,688-696.

2.E.AKotelnikova ,M.S.Gelfand(2001).Bacteriocin production by Gram-Positive Bacteria and the Mechanisms of Transcriptional Regulation. Russian Journal of Genetics. Vol 38,No.6.628-641.

3.Denis Twomey,R.PRoss, Maire Ryan.Billy Meanry & C.Hill(2002).Lantibiotics produced ny lactic acid bacteria: structure function and applications. Antonie van Leeuwenhoek 82: 165-185,

4.Evandro Leite de Souza,Clemilson Antonio da Silva, Cristina Paiva de Sousa(2005).Bacteriocins: Molecules of Fundamental Impact on the Microbial Ecology and Poterntial Food Biopeservatives. International Jornal Vol.48,n. 4. 559-566.

5.S.Dimov,P.Ivanova, N.Harizanova(2005). Genetics of bacteriocins biosynthesis by lactic acid bacteria, General & Applied Genetics , Review.

6.Svetoslav D.Todorov(2009). Bacteriocins from lactobacillus plantarum- production, Genetic organization and mode of action.Brazilian Journal of Microbiology 40: 209-221.

7.Luis E.N. Quadria(2002). Regolationof antimicrobial peptide production by autoinducer- mediated quorum sensing in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek 82.133-145.

8.Jon Nissen-Meyer,Camilla Oppegard, Per Rogne,Helen Sophie Haugen(2009) Structre and Mode-of-Action of the Two-Peptide(Class-IIb)Bacteriocins.Probiotics & Antimicro. Prot. DOI 10.1007/s12602-009-9021-z.

9.Beatriz Martinez,Maria Fernandez,Juan E.Suarez ,Ana Rodriguez(1999).Synthesis of lactococcin 972,a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* IPLA 972,depends on the expression of a plasmid-encoded bicistronic operon.Microbiology 145. 3155-3161.

10. Kyung Dong Lee. Elizabeth J.Gray. Fazli Mabood. Woo-Jung.Trevor Charles. (2009). The class IId bacteriocin thuricin- increases plant growth. Planta 229:747-755.

11. M.A.Riley M.A.Chavan (Eds.) Bacteriocin: Ecology and evolution university of massa chsetts Biology Department 221 morril Science center III.

12. Margaret A.Riley,John E.Wertz(2002)Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives.Biochimie84,

357-364

13. Lorna E.Lancaster,Wolfgang Wintermeyer,Marina V.Rodnina(2007). Colicins and their potential in cancer treatment.Blood cells, Molecules, and Diseases 38, 15-18.

14. Ratchaneewan Aunpad, Keasara Na-Bangchang (2007) Pumilicin 4, A Novel Bacteriocin With Anti-MRSA And Anti-VRE Activity Produced by Newly Isolated Bacteria Bacillus Pumilus Strain WAPB4.Current Microbiology 55.308- 313

15. Antonio Galvez, Hikmate Abriouel, Rosario Lucas Lopez, Nabil Ben Omar(2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. International Journal of food Microbiology 120, 51-70.

فهرست

بخش اول

طبقه بندی ، تکامل و کاربردهای باکتریوسین ها (مریم کریمی پورفرد)

مقدمه..... 1

ژنتیک باکتریوسین ها..... 2

تقسیم بندی باکتریوسین ها.....4

- کلاس I.....5
- کلاس II 10
- کلاس III 18
- Colicins and colicin- likes 19

تکامل باکتریوسین ها..... 21

- diversifying selection
- Recombination

کاربردهای باکتریوسین ها 24

- کاربرد در پزشکی
- کاربرد در صنایع غذایی

منابع 29

بخش دوم

اکولوژی باکتریوسین ها و نقش آن ها در تنظیم رفتارهای میکروبی (الهام تنها)

بخش سوم

پروبیوتیک ها، پربیوتیک ها (توران منصوری)

مقدمه.....1

خصوصیات پروبیوتیک ها.....3

- مکانیزم های عمل پروبیتیک ها 4
- پروبیوتیک ها و سرطان 8
- ایمنی در مصرف پروبیوتیک ها.....10
- انواع پروبیوتیک ها.....11
- منابع پروبیوتیک ها.....12
- عملکرد پروبیوتیک ها.....13

- محصولات تجاری پروبیوتیکی.....14
- Synbiotic 15
- منابع 16

به نام خدا

سمینار اکولوژی

باکتریوسین ها، اکولوژی و تکامل آن ها

پروبیوتیک ها

استاد :

دکتر محمد کارگر

مهر 88