

Gram-Pozitif Bakteriyosinlerin Genel Özellikleri ve Güncel Sınıflandırılması

Fadime Kıran, Özlem Osmanağaoğlu

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tandoğan, Ankara

Geliş Tarihi (Received): 27.06.2012, Kabul Tarihi (Accepted): 24.09.2012

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): fkiran@science.ankara.edu.tr (F. Kıran)

☎ 0 312 212 67 20 /1552-1094 📠 0 312 223 23 95

ÖZET

Laktik asit bakteri (LAB) familyası bazı üyelerinin de dahil olduğu bakteriler, aynı çevrede yaşayan ya da o çevreyi işgal eden diğer yarışmacı bakterilerin gelişimini engelleme özelliğine sahip antimikrobiyal maddeler sentezlemektedirler. Bu maddelerden en iyi bilineni bakteriyosinlerdir. Özellikle bakteriyosin üreten bakterilerin gıdalardaki varlığı son derece yaygındır. Mevcut tüm bakteriyosinleri kapsayan genel ve tutarlı bir sınıflandırma modeli formüle etmek bugüne kadar kolay olmamıştır. Bu derleme çalışmasında, Gram-pozitif bakteriyosinler için literatürde yer alan güncel klasik sınıflandırma sistemlerine ilaveten, yapı-temelli dizi parmak izi yöntemi ile oluşturulan yeni sınıflandırma modellerinden bahsedilmiştir. Gıda korunmasında, gıda güvenliğinde ve yeni ilaçlar geliştirmek amacıyla tıp alanında kullanılan ve anti-enfektif ajanlar olarak umut vaat eden bakteriyosinlerle ilgili bilgiler, sınıflandırma yöntemlerinin ortaya koyduğu güncel modeller neticesinde gün geçtikçe gelişme göstermektedir. Sınıflandırma için tutarlı ve yeterli bir sınıflandırma modelinin oluşturulması ise özellikle bakteriyosin alanında çalışan araştırmacılar için oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyosin, Sınıflandırma, Yapı-temelli dizi parmakizi, Bakteriyosin veri tabanı

General Characteristics and Current Classification of Gram-Positive Bacteriocins

ABSTRACT

Some bacteria including lactic acid bacteria (LAB) family synthesize antimicrobial agents whose property is to inhibit the growth of other competitive species that would occupy and grow in the same environment. One of the best known of these substances is bacteriocins. Especially, occurrence of bacteriocin-producing bacteria in food is quite common. Until now, it has not been easy to formulate a general and coherent classification models that encompasses all of the existing bacteriocins. In this review, in addition to classical classification models for Gram-positive bacteriocins in the literature, new classification schemes generated by structure-based sequence fingerprint was mentioned. Information on bacteriocins, which are promising anti-infective agents and used in food preservation, food safety or for improving new drugs for medical use, has been developing day by day as a result of the current models put forward by the classification methods. Establishment of sufficient and consistent classification model for classification is very important for researchers especially working in the field of bacteriocins.

Key Words: Bacteriocin, Classification, Structure-based sequence fingerprint, Bactibase

GİRİŞ

Günümüzde, tüketici talebine bağlı olarak yeni gıdalar geliştirilmektedir. Bu gıdaların birçoğunda fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin geliştirilmesi ve muhafaza sürelerinin (raf ömrü) uzatılması amacıyla FDA (Food and Drug Administration-Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylı çeşitli koruyucu katkı maddeleri kullanılmaktadır. Birçoğu doğal olmayan kimyasal madde kökenli bu koruyucuların insanlarda astım, damar problemleri gibi hastalıklara sebep olabileceği bilinmektedir [1]. Teknolojik ve ekonomik olarak gelişmiş olan ülkelerde belirtilen bu sağlık problemlerine sıkça rastlanılması ise başta beslenme alışkanlıkları olmak üzere doğallıktan uzaklaşılmasını göstermektedir. Bu durum daha doğal yapıya sahip antimikrobiyal maddelere ve üretim teknolojisi gereği kullanılan doğal gıda katkı maddelerine olan talebi arttırmaktadır [1]. Bu nedenle araştırmacılar katkı maddeleri WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından sağlıklı olduğu belirlenen gıdalara yönelmişlerdir. Son yıllarda ise kimyasal gıda katkı maddelerine alternatif olarak bakteriyosinler gibi doğal koruyucular tercih edilmeye başlanmıştır.

Bakteriyosinlerin memeliler üzerinde herhangi bir yan etkisinin bulunmadığı kanıtlanmıştır. Aynı zamanda bu maddeler GRAS (Genel olarak güvenli kabul edilir) olarak kabul edilmişlerdir [2]. Bakteriyosinlerin gıdalarda antimikrobiyal aktivite sergilemelerinin yanı sıra doğal olmaları, renksiz, tatsız ve kokusuz olmaları ürün özellikleri açısından oldukça önemlidir. Protein yapılarında olmaları ise pankreas kaynaklı proteolitik enzimlerden ve mide salgılarından etkilenebildiklerini ve insan vücudunda sindirilebileceklerini göstermektedir. Ayrıca bazı bakteriyosinlerin ısı stabilitelerinin olması yüksek sıcaklıkta işlem gören birçok gıda maddesinde kullanılabilirliğini sağlamaktadır [3]. Hatta bazı bakteriyosinler otoklav sıcaklığında bile stabil kalabilmektedir. Dolayısıyla bakteriyosinlerin et ve süt ürünleri başta olmak üzere birçok gıdada kullanımı mümkün olmaktadır. Bakteriyosinler gıda maddesine doğrudan katılabilirler gibi bakteriyosin sentezleyen koruyucu kültürlerin gıdaya inokulasyonu veya gıdanın koruyucu ambalaj materyaliyle birlikte de kullanılabilirlerdir.

Bakteriyosinlerin gıdaların raf ömrünü uzatmak amacı ile kullanılmaları her ne kadar önemli bir umut ışığı olsa da bu tür yapıların tam olarak uygulamaya konulmadan önce karakterize edilmesi gerekmektedir. Fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, etki mekanizmasının ve bakteriyosin üretimini kontrol eden genlerin detaylı bir şekilde tanımlanması, hücre dışına salgılanan bakteriyosinin yeterli miktarda elde edilmesi ve gıdalarda kontaminasyona sebep olan ve istenmeyen bakterilere karşı antagonistik etkilerine bakılması şarttır. Böylece gıdalarda kullanımı onaylan nisin ve pediyosin başta olmak üzere, saflaştırılarak karakterize edilen bakteriyosin gıdaların korunmasında ve raf ömrünün uzatılmasında biyolojik kontrol olarak ekonomik bir şekilde kullanılabilir. Literatür bilgilerine bakıldığında birçok bakteriyosin tanımlanmış olup gen kodlayıcı ve düzenleyici dizileriyle birlikte birincil, ikincil ve üçüncül

yapıları belirlenmiştir. Böylelikle bakteriyosinlerin yapısal ve fonksiyonel nitelikleriyle ilgili bir avantaj elde edilmektedir. Bu derleme çalışmasında günümüze kadar tanımlanan ve çeşitli Gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerin güncel sınıflandırılmaları hakkında bilgi verilmiştir.

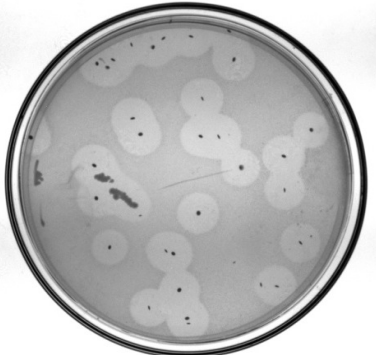
BAKTERİYOSİNLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Tüm organizmalar doğal bağışıklık sisteminin bir parçası olarak antimikrobiyal peptidler üretmektedirler. Pasteur ve Joubert 1877 yılında yaptıkları bazı çalışmalar neticesinde bakteriler arasında antagonistik etkileşimi göstermişlerdir [4]. Bu etkileşimin bir kimyasal maddeden kaynaklandığı ilk olarak 1925 yılında Andre Gratia tarafından rapor edilmiştir. "Principle V" olarak adlandırılan ve *Escherichia coli*'nin bir suşu tarafından üretilen bu madde *E. coli*'nin diğer suşlarına karşı etkili bulunmuştur [5]. Kolisin terimi ilk kez 1946'da Gratia ve Fredericq tarafından kullanılmıştır [6]. İlerleyen zamanlarda *E. coli* ve Enterobacteriaceae familyasının yakın türleri tarafından üretilen birçok kolisin keşfedilmiştir. Bakteriyosin terimi ise ilk kez 1953 yılında kullanılmış ve Gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen, küçük moleküler ağırlıklı, antimikrobiyal etkiye sahip peptidler olarak tanımlanmıştır [7]. Günümüzde kabul gören bilimsel tanımıyla bakteriyosin; "dar antimikrobiyal etki spektrumuna sahip olan, üretici suşun bazı özel bağışıklık mekanizmaları ile ilişkili olup hücre dışına salınan, birincil ve gelişmiş protein yapısındaki bakteriyel ribozomal sentez ürünleri" dir [8]. Mikrobiyal dünyada bakteriyosin olarak tanımlanan antimikrobiyal peptidler bakterilerin savunma sisteminin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Geleneksel antibiyotiklerse bazı bakteriler tarafından üretilmekte fakat antimikrobiyal bileşenler olarak bakteriyosinlerden farklı kabul edilmektedirler. Bakteriyosin olarak nitelendirilmenin en önemli kriteri; antibiyotiklerin multi enzim kompleksleri tarafından bakteriyosinlerin ise ribozomal olarak sentezlenmeleridir. Birçok bakteriyosin geleneksel antibiyotiklerle karşılaştırıldığında dar bir inhibisyon spektrumuna sahiptir. Bununla beraber antibiyotikler yan etkilerle sahip olabilir fakat bakteriyosinler tatsız, kokusuz ve renksiz olup toksik değildirler. Bakteriyosinleri antibiyotiklerden ayıran diğer önemli bir özellik ise duyarlı bakterilere karşı olan etki güçleridir. Bakteriyosinler nanomolar seviyede bile etkin olabildiklerinden benzersizdirler. Antibiyotiklerin ise etkilerini gösterebilmeleri için yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır [2].

Bakteriyosinler Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler tarafından üretilmektedirler. Bundan dolayı bakteriyosinleri Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriyosinler olarak ayırmak oldukça anlamlıdır. Fakat Gram-pozitif bakterilerin birçok ticari üründe doğal olarak bulunmaları (örneğin laktik asit bakterileri) ve insan kullanımı için GRAS kabul edilmeleri, bu grup bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlere olan ilgiyi arttırmıştır [2]. Bu kısa derleme çalışmasında da Gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler üzerinde durulmuştur. Bu gruba dahil en büyük grubu laktik asit bakterileri (LAB) oluşturmaktadır. Laktik asit bakterileri suşları tarafından üretilen bakteriyosinler gıda

bozulmalarına ve gıda kökenli hastalıklara sebep olan pek çok Gram-pozitif bakteriye karşı antimikrobiyal etki spektrumuna sahiptir ve bu nedenle "biyokoruyucu-bioprezervatif" olarak tanımlanmaktadır [9]. Bu spektrum, bakteriyosin üreticisine yakın fakat farklı cinslere ve türlere ait bakterileri içerebilmektedir. Laktik asit bakteri suşları tarafından üretilen bakteriyosinler değişen sayıda ve çeşitte aminoasitlerden oluşan katyonik peptidlerdir. Genellikle Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösteren bu peptidler, genel olarak yüksek sıcaklık ve geniş pH aralığına karşı dirençlidirler. Protein yapısında olup etkileri proteolitik enzimler tarafından kaybedilmektedir. Üretici hücreler genetik olarak (immünite geninden dolayı), kendi ürettiği bakteriyosinlere karşı bağışıklık kazanmışlardır. Gram-pozitif bakteri hücreleri bir bakteriyosine duyarlı iken bir başka bakteriyosine karşı dirençli olabilmektedir [10]. Şekil 1'de bakteriyosin üreticisi kolonilerin bir gıda patojeni olan *Listeria monocytogenes*'e karşı inhibisyon etkisi gösterilmiştir [11].

Bakteriyosinlerin muhtemel etki mekanizması hücre zarını hedef alan ve spesifik bağlanma bölgesi gerektiren inhibisyon etkisidir. Grup IIa bakteriyosinlerinin etki mekanizmaları ilerleyen bölümlerde detaylandırılmıştır. Buna ilaveten bakteriyosinlerde görülen diğer bir etki mekanizması direkt olarak proton itici kuvvet (PMF) üzerine etkili olan inhibisyonudur. Çalışmalar bu inhibisyon şeklinin hücre zarındaki elektrolitik dengenin bozulmasıyla oluşan inhibisyon şekline farklı olmadığını belirtmesine karşın bazı bilim adamları bu inhibisyon mekanizmasının sadece PMF bölgelerinde etkili olduğunu ve farklı bir mekanizma gerektirdiğini desteklemektedirler [12]. Özellikle yüksek molekül ağırlığına sahip bazı bakteriyosinlerde zar üzerinde iyon kanalları oluşturulması suretiyle inhibitör etki gerçekleştirilmektedir. Henüz kanıtlanmamış bir etki mekanizması ise bakteriyosinin hücre içerisine girerek RNA sentezini durdurmasıdır [13]. Düşük miktarda kullanılan nisin ise lipit II molekülleri ile etkileşime geçerek por oluşumuna neden olmaktadır [14].



Şekil 1. *Listeria monocytogenes*'e karşı bakteriyosin üreten kolonilerin petri görüntüsü [11]

Bakteriyosinler ribozomal olarak sentezlenen öncül peptidlerin translasyon sonrası modifikasyonları ile

sonuçlanan ve genellikle gelişme fazında üretilen birincil metabolitlerdir. Sentezlenen öncül peptidler antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. Salınım öncesi proteolitik kesime uğramakta ve aktif bakteriyosin molekülü oluşmaktadır [2]. Örneğin; Pedyosin Ach/PA-1 üretimi ve salınımı için 3.5 kb'lık DNA üzerine lokalize olmuş dört adet gene (pedA, pedB, pedC, pedD) ihtiyaç duyulmaktadır: (i) prebakteriyosini kodlayan yapısal bakteriyosin geni, (ii) üretici suşu kendi ürettiği bakteriyosinden koruyan immünite proteinlerini kodlayan immünite geni, (iii) salınım için ABC taşıyıcıyı kodlayan gen ve (iv) bilinmeyen fonksiyonları gerçekleştiren ve tamamlayıcı proteinleri kodlayan gendir [15]. Belirtilen genler tek bir operona lokalize olmuştur. Translasyon neticesinde öncelikli olarak 66 aminoasitten oluşan biyolojik olarak inaktif peptid sentezlenmekte ardından post translasyonel modifikasyonlar neticesinde N terminal ucundaki 18 aminoasitlik lider fragment uzaklaştırılmakta ve 44 aminoasitten oluşan ve biyolojik olarak aktif peptid oluşmaktadır [15]. 34 aminoasitten oluşan Nisin A'da ise benzer şekilde NisA/Z/Q/BTCIPRFEG gen kümesi; öncül nisin proteinin sentezini, translasyon sonrası modifikasyonunu, immünite özelliğini, transkripsiyonel regülasyonunu, peptid transferini ve diğer proteinlerin işlenmesini gerçekleştiren proteinleri kodlamaktadır [16].

Uygun olan bakteriyosinin veya bakteriyosin üreten LAB suşlarının gıdalara eklenmesi hem raf ömrünü uzatmakta hem de sağlıklı kabul edilmektedir [17]. Bu amaç doğrultusunda koruyucu kültür olarak LAB suşlarına ilaveten kullanılan bakteriyosinler içerisinde sıklıkla kullanılan "nisin" bakteriyosinidir. Nisinin Applin-Barret firması tarafından üretilerek Nisaplin ticari adıyla piyasada bulunan preparatları mevcuttur [18,19]. Birleşmiş milletlere bağlı FAO ve WHO nisinin koruyucu katkı maddesi olarak kullanımına ilk kez 1969 yılında izin vermiştir [20]. Bakteriyosin preparatlarının raf ömrü uzatıcısı olarak kullanımına ise ilk olarak krem peynirlerinde izin verilmiştir. Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (US FDA) yetişkinler için günlük kabul edilebilir nisin miktarını 2,9 mg olarak belirlemiştir. Bununla birlikte günümüzde *Pediococcus* türlerini içeren bakteriyosin üreticisi LAB suşlarının saf kültürleri yaygın olarak bilinen gıda patojenlerine ve gıda bozulmalarına neden olan bakterilere karşı koruyucu kültürler olarak marketlerde yerini almıştır [21]. Son zamanlarda, *Pediococcus acidilactici* tarafından üretilen pediyosin isimli bakteriyosini içeren formülasyonlardan biri, Alta 2341® ticari ismiyle marketlerde tüketicinin kullanımına sunulmuştur. Danisco, *Ped. acidilactici* kültürünün dondurularak kurutulmuş halini formüle etmiş ve CHOOZITM ticari ismi ile pazarlamıştır. Flav43 ise özellikle çedar ve yarı katı peynirlerde sert ve tatlı lezzet oluşumunu arttıran ve hızlandıran ek madde olarak kullanılmaktadır [21].

BAKTERİYOSİNLERİN GÜNCEL SINIFLANDIRILMALARI

Ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptidlerin sınıflandırılması üretildiği organizma, moleküler büyüklük, fiziksel özellik, kimyasal yapı ve etki mekanizması gibi çeşitli kriterlere göre

gerçekleştirilmektedir. LAB suşları tarafından üretilen bakteriyosinlerin de içinde bulunduğu Gram-pozitif bakteriyosinler, ilk sınıflandırılma girişimleri neticesinde sıcaklık hassasiyetleri, konakçı özgüllüğü, tripsin duyarlılığı, çeşitli bakteriyosinler arasındaki çapraz aktivite, konakçı kombinasyonları gibi çeşitli faktörler göz önüne alınarak sekiz grup altında toplanmışlardır [22,23]. Bu yaklaşım Klaenhammer (1993) tarafından tekrar değerlendirilmiş ve Gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler temelde lantibiyotikler (Grup I bakteriyosinler), modifiye olmamış ısı stabil membran aktif bakteriyosinler (Grup II bakteriyosinler), ısı kararsız bakteriyosinler (Grup III bakteriyosinler) ve lipid ve karbonhidrat içeren kompleks bakteriyosinler (Grup IV bakteriyosinler) olmak üzere dört gruba ayrılmıştır [24]. Son zamanlarda bu temel sınıflandırma düzenlemesi araştırmacılar arasında tartışma konusu olmuş, Grup III bakteriyosinlerin hücre duvarı parçalanmasına neden olan enzimatik proteinler içermesinden dolayı sınıflandırmadan çıkartılması ve bu grup antimikrobiyal maddelerin bakteriyolizin olarak adlandırılması önerilmiştir [25]. Halkasal bakteriyosinler ise Grup IV bakteriyosinlere dahil edilmiştir. Bazı nötral ve anyonik peptidler de tanımlanmış olup lantibiyotikler içerisinde gruplandırılmışlardır [2]. Grup I ve II içerisinde de farklı alt gruplar oluşturulmuştur. Fakat son zamanlarda özellikle aminoasit dizi homolojisi, bakteriyosin transport sistemi gibi yapısal özellikler ile birlikte etki mekanizmalarını içeren yeni bilgiler mevcut gruplardaki değişimleri ve yeni alt grupların eklenme tartışmalarını arttırmıştır. Bakteriyosinlerin sınıflandırılması halen tartışmalı olsa da bu derlemede son olarak güncellenmiş sınıflandırma gruplarından bahsedilmiştir [26]. Bu güncel sınıflandırmaya ilaveten Grup IV olarak bilinen ve lipid veya karbonhidrat yan grupları içeren kompleks bakteriyosinlerde mevcuttur. Bu gruba giren bakteriyosinlerin etkili olabilmeleri için peptid yapı haricinde belirtilen yan grupları taşımaları gerekmektedir. Genellikle hidrofobik olan bu grup üyeleri ısıya dayanıklıdır [27].

Grup I Bakteriyosinler (Post-translasyonel Olarak Modifikasyona Uğrayan Bakteriyosinler)

Post-translasyonel olarak modifiye aminoasit içeren bakteriyosinler genel olarak lantibiyotik başlığı altında toplanmaktadır. Bununla beraber günümüzde ilave post-translasyonel modifiye bakteriyosinlerin tanımlanması farklı bir gruplandırma sisteminin oluşmasına neden olmuştur ki bu durum Grup I bakteriyosinleri gruplandırmak için ortak bir platform oluşturulmasını zorlaştırmaktadır. Son yıllarda elde edilen bilgiler dahilinde Grup I bakteriyosinler; lantibiyotikler, labirintopeptinler, saktibiyotikler olmak üzere üç grupta değerlendirilmiştir [26].

GRUP Ia-Lantibiyotikler

Yapılarında bilinen aminoasitlerden farklı olarak lantionin (Lan) ve beta metil lantionin (MeLan) aminoasit türevlerini içermeleri nedeniyle lantibiyotikler olarak adlandırılmaktadırlar. Bununla birlikte; bu grup bakteriyosinlerin yapılarında biyokimyasal özelliklerini etkileyen dehidro-alanin ve dehidro-bütirin de

bulunmaktadır [28]. Lantibiyotikler ile ilgili olarak yapılan son çalışmalar biyosentez ve regülasyon mekanizması, etki mekanizması ve yapısı gibi konular üzerine odaklanmıştır. Bu grup bakteriyosinler 19-28 aminoasit uzunluğunda olup moleküler ağırlıkları 1.9 ile 4.6 kDa arasında değişmektedir [29]. Lantibiyotik grubu modifiye olmamış öncül peptidin aminoasit dizisi, aktif peptidin salgılanması ve optimum aktivite için gerekli olan peptid sayısı göz önüne alındığında tip A ve tip B olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır [25,30,31]. A alt grubu bakteriyosinler net pozitif yüke sahip ve hidrofobik polipeptid yapısındadırlar. Bu gruba ait üyeler hedef hücreyi zarlarında porlar oluşturmak suretiyle elektrolitik dengeyi bozarak etkilemektedir. Tip A lantibiyotikler kendi içinde AI ve AII olmak üzere iki gruba ayrılmakta ve bu ayırım modifikasyon enzimlerinin ve biyosentezik yolun farklılığına göre gerçekleşmektedir [32]. Tip B lantibiyotikler ise yüksüz veya negatif yüke sahip olup globüler peptid yapısındadırlar. Spesifik enzimleri inhibe ederek antimikrobiyal aktivite göstermektedirler [28]. Tip A lantibiyotiklere örnek olarak en sık çalışılan ve birçok ülkede gıdalarda koruyucu madde olarak kullanımına izin verilen Nisin verilebilir [2]. Bir aminoasit rezidüsü farkla oluşan iki nisin varyantı (nisin A ve nisin Z) *Lactococcus lactis* bakterisinden, Nisin U olarak adlandırılan diğer bir varyantı ise *Streptococcus uberis*'ten elde edilmiş olup Nisin A ile % 78 oranında benzer bulunmuştur [33]. *Streptococcus salivarius* tarafından üretilen salivarisin A ise bu türe ait karakterize edilen ilk bakteriyosindir [34]. Mutasin I, II ve III *St. salivarius* suşları tarafından üretilen ve yapı olarak laktisin 481'e benzeyen tip A grubu lantibiyotiklerdir [35]. Bu gruba giren diğer bir bakteriyosin olan masedosin ise peynirden izole edilen ve yeni bir tür olarak tanımlanan *St. macedonicus* suşu tarafından üretilmektedir [36]. Bununla beraber *Staphylococcus epidermidis* tarafından üretilen pep5 ve epidermin ile *S. gallinarum* tarafından üretilen gallidermin de bu gruba dahildirler [37,38]. Diploksoxin, mutasin A ve duramisin gibi bakteriyosinlerde bu grupta yer almaktadırlar [29,39].

GRUP Ib-Labirintopeptinler

Yapılarında bilinen aminoasitlerden farklı olarak modifiye labionin aminoasitini içermekte olup ilk örneği *Actinomadura namibiensis* DSM 6313 tarafından üretilmektedir. İki labionin Labyrinthopeptinde lokalizedir ve sorumlu propeptidin Ser-Xxx-Xxx-Ser-Xxx-Xxx-Xxx-Cys motifinden türemiştir. Bu modifikasyonun iki fonksiyona sahip bir protein olan LabKC tarafından katalize edildiği düşünülmektedir. Bu fonksiyonlardan birincisi; N terminal bölgesindeki serin/treonin kinaz fonksiyonu, ikincisi ise C terminal bölgesindeki lantionin siklaz fonksiyonudur. Buna ilaveten, önemli olan bir diğer nokta ise Labyrinthopeptinlerin bu sıra dışı yapıyı içermesinin sonucu olarak *Herpes simplex* virüsüne karşı aktif olmasıdır. Nöropatik tedavi uygulamalarında potansiyel bir ajan olarak dikkat çekmektedir [26,40].

GRUP Ic-Saktibiyotikler

Subtilosin A ve turisin CD'nin dahil edildiği bir gruptur. Subtilosin A *Bacillus subtilis* tarafından üretilen siklik bir bakteriyosin olmasına rağmen üç sistein rezidüsünün

sülfürü ile iki fenilalaninin ve bir treoninin alfa karbonu arasındaki çapraz bağları içeren post-translasyonel modifikasyonu içermesinden dolayı bu gruba dahil edilmiştir [41, 42, 43]. İki peptid bakteriyosin olarak bilinen ve *Bacillus thuringiensis* 6431 tarafından üretilen thurisin CD ise sisteinler arasında alfa karbon köprüleri içermektedir [26].

Grup II Bakteriyosinler (Modifiye Olmamış Bakteriyosinler)

Grup II bakteriyosinler ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptidlerin büyük bir kısmını oluşturan, küçük, ısıya dayanıklı ve lantionin gibi modifiye aminoasitleri içermeyen bakteriyosinleri kapsamaktadır. Genel olarak Grup II bakteriyosinler post-translasyonel modifikasyona uğramadıkları ve normal olarak sadece gerekli bakteriyosini, immunitiyi ve transportu kodlayan genlere sahip oldukları için yapısal olarak lantibiyotiklerden daha basittir. Bununla beraber, lantibiyotiklerde olduğu gibi Grup II bakteriyosinini kodlayan genler plazmid ya da hareket edebilen genetik elementler üzerinde bulunabilmektedirler. Bu grup bakteriyosinler son yapılan sınıflandırma çalışmalarında 4 alt gruba ayrılmaktadır. Grup IIa; pediyosin benzeri güçlü anti-*Listeria* (pediyosin PA-1 gibi) bakteriyosinleri, Grup IIb; iki peptid bakteriyosinleri (plantarisin EF gibi), Grup IIc; halkasal bakteriyosinleri (laktokoksin A gibi), Grup II'd ise diğer gruplara dahil olmayan lineer bakteriyosinleri içermektedir [26].

Grup IIa-Pediyosin Benzeri Bakteriyosinler

Grup II bakteriyosinlerinin en büyük grubu olan Grup IIa bakteriyosinleri, *Listeria* inhibisyonuna neden olan pediyosin benzeri bakteriyosinler olarak tanımlanmaktadır [44,45]. Farklı aminoasit içeriklerine sahip, yaklaşık 10 kDa ağırlığında, yüksek sıcaklık ve ekstrem pH'lara dayanıklı olan bir bakteriyosin grubudur. Birçok LAB suşları tarafından üretilmekte olup farklı tür ve suşlarda yaklaşık 30 pediyosin benzeri bakteriyosin tanımlanmıştır [46]. Bu gruba ait ilk tanımlanan ve karakterize edilen bakteriyosinler arasında pediyosin PA-1, enterosin A, lökosin A-UAL 187, mesenterisin Y105, sakasin P ve kurvasin A bulunmaktadır [35,47-52]. Bu grubun üyeleri % 40'dan fazla benzer aminoasit dizi homolojisine sahip olup korunmuş bir amino terminal dizisi (Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys) ve amino terminal ucunda sistein disülfid köprüsü içermelerinden dolayı diğer gruplardan ayrılmaktadırlar. Pozitif yüklü rezidüeller hidrofilik N terminal bölgede yerleşmişlerdir. C terminal bölgesi ise hedef hücre spesifikliğin belirlenmesinde önemlidir [45]. Pediyosin Ach/PA-1 saflaştırılmış ve peptidin primer yapısı Edman degradasyonu ve yapısal genin dizi analizi neticesinde belirlenmiştir [53]. Aminoasit dizileri karşılaştırıldığında aynı olduğu açığa çıkan Pediyosin Ach ve pediyosin PA-1'in aktif molekül 4 tane sistein ünitesi içermektedir. Bunlardan 9. ve 14. sistein arasında 1. disülfid bağı, 24. ve 44. sistein arasında ise 2. disülfid bağı bulunmaktadır. Disülfid bağları oluşan bu konformasyon sonucunda bakteriyosinin -20°C ile 100°C arasında stabil kalmasını sağlamaktadır [54].

Antimikrobiyal etki spektrumu açısından değerlendirildiğinde oldukça dar bir spektruma sahip olan bakteriyosinler duyarlı mikroorganizmalar üzerinde farklı etki mekanizmalarına sahiptirler [45,55]. Anti-*Listeria* özellikleriyle bilinen ve Gram-pozitif bakterilere karşı bakteriosidal etki gösteren pediyosin benzeri bakteriyosinlerin muhtemel etki mekanizması hücre zarını hedef alan ve spesifik bağlanma bölgesi gerektiren inhibisyon etkisidir. Grup IIa bakteriyosinlerinin sahip olduğu YGNGV aminoasit dizisi sadece bu diziyi tanıyan spesifik bir zar reseptörüne bağlanmaktadır [56]. Bu bakteriyosin-reseptör etkileşiminin doğası henüz tam olarak anlaşılabilmiş olmamasına rağmen, mptC ve/veya mptD zar bağlanma proteinlerinin bu etkileşimle ilişkili olduğu söylenmektedir [57]. Grup IIa bakteriyosinlerin mutantları ve analogları ile yapılan çalışmalarda yapı-fonksiyon ilişkisi ve peptid-reseptör kompleks oluşumları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar tüm dizinin ve üç boyutlu yapının interaksiyonlarda oldukça önemli olduğunu göstermiştir. Üç boyutlu yapı özellikle hücre zarında spesifik bölgelere bağlanarak etkili olan bakteriyosinler için son derece önemli olmaktadır. Reseptöre bağlanma neticesinde hücre duvarında oluşan üç boyutlu konformasyonel değişimle bakteriyosin molekülleri duvardan geçebilir hale gelmektedir. Bakteriyosin molekülleri hücre duvarından geçip sitoplazmik zarla temas ettikten sonra sitoplazmik zarın fonksiyonunu bozmaktadırlar. Bakteriyosinler katyonik moleküller oldukları için sitoplazmik zar üzerinde etkili olmalarında sahip oldukları hidrofobik kısımlar oldukça önemli rol oynamaktadır. Duyarlı hücre zarında bulunan negatif yüklü fosfat gruplarının etkisiyle ortaya çıkan elektrostatik etkileşim sonucu bakteriyosin hücre zarına tutunmaktadır [28]. Böylece hidrofobik kısım zar yapısının içine girerek gözenek oluşumuna yol açmaktadır. Sonuç olarak zar geçirgenliği değişmekte, zar transport mekanizması bozulmakta ve PMF dağılmaktadır ki bu durum hücre lizisi ile sonuçlanmaktadır. Bütün bunlar enerji üretiminin engellenmesine ve protein, nükleik asit gibi temel moleküllerin biosentezlerinin durmasına yol açmaktadır. Dirençli Gram-pozitif hücrelerde bu değişim ya oluşmamakta ya da immunitiyi proteinleri pediyosinlerin sitoplazmik zarla olan etkileşimine karışmaktadır [55].

Grup IIb-İki Peptidli Bakteriyosinler

Lantibiyotiklerde olduğu gibi Grup II bakteriyosinlerinde de birçok iki peptidli bakteriyosin tanımlanmıştır. İki peptidli bakteriyosinin tanımlanabilmesi için üç temel kriterin sağlanması gerekmektedir. Bunlardan birincisi; iki peptid bir araya geldiğinde maksimum aktivite göstermeli fakat tek başlarına aktivite sergilememelidir. Genellikle peptidin biri sadece diğeri ile tamamlayıcı olduğunda aktivite sergilerken, enterosin 1071, laktokoksin G ve laktokoksin Q bakteriyosinlerinde iki farklı peptid birbirinden bağımsız aktivite sergilemekte, bir araya geldiklerinde ise bu aktivite artmaktadır. Bu gruba giren bakteriyosinlerde bir immunitiyi proteini yeterli olup iki peptidli bakteriyosin sisteminin genetik organizasyonunda tek immunitiyi genini takiben birbirini izleyen iki bakteriyosin yapısal genlerinin bir arada

bulunması gerekmektedir [2]. ABC taşıyıcıyı kodlayan genin lokasyonunda bitişik ya da aynı yerde lokalize olabilir [58]. Günümüze kadar 16 adet iki peptidli modifiye olmamış bakteriyosin tanımlanmıştır [46]. Sadece *Brochothrix campestris* tarafından üretilen iki peptidli bakteriyosin hariç, diğer iki peptidli bakteriyosinlerin çoğu LAB orijinlidir. Laktokoksin G ise ilk karakterize edilen iki peptidli bakteriyosindir [26]. İki peptidli bakteriyosinlerin aminoasit dizisi ve yapısı değişkenlik gösterirken GxxxG motifi her iki peptidde de korunmuş dizilerdir. Enterosin 2071A laktokoksin Gα ile % 64 benzer iken Enterosin 2071B ile laktokoksin Gα arasındaki aminoasit dizi benzerliği % 61 olarak bulunmuştur. İki peptidli bakteriyosinlerin üç boyutlu yapıları incelendiğinde Grup IIa ve Grup IIc tek peptidli bakteriyosinler ile benzer oldukları belirlenmiştir. Bundan dolayı gelecekte gerçekleştirilecek detaylı üç boyutlu yapısal tayin çalışmalarının, yapı-temelli bakteriyosin sınıflandırma modeli kapsamında yeni bir sınıflandırma alanı oluşturabileceği düşünülmektedir [26]. Etki mekanizmaları hakkında yapılan çok az sayıda çalışma hedef hücre zarı geçirgenliğinin bozulmasını takiben hücre ölümüne neden olduklarını göstermektedir. Fonksiyonları bakımından Grup IIa ve Grup IIc ile benzerlik sergilemektedirler [26].

Grup IIc-Halkasal Bakteriyosinler

Bu gruba giren bakteriyosinler diğer bakteriyosinlerde olduğu gibi ribozomal olarak sentezlenmekte ve bu özelliklerinden dolayı gramisidin-S ve mikosubtilin gibi enzimatik olarak sentezlenen siklik antimikrobiyal peptidlerden kesin olarak ayrılmaktadırlar [59]. Lineer bakteriyosinlere göre daha yüksek bir stabiliteye sahiptirler. Etki mekanizmaları ise diğer bakteriyosinler ile benzerdir [26]. Grup IIc bakteriyosinleri, N terminal ve C terminal uçlarının halkasal yapıyı oluşturmak üzere kovalent bağ oluşturan bakteriyosinlerdir. NMR ve X-ray kırınım çalışmaları karnosiklin A ve *Enterococcus faecalis* tarafından üretilen AS-48 bakteriyosinlerinin bu gruba dahil olduğunu ve düzenli olarak tekrar eden alfa helikal motifler içerdiğini göstermektedir [42,43,60,61]. Bu peptidler genellikle ısıya dayanıklı olup, proteolitik kesimlere önemli derecede dirençlidirler ve anti-*listerial* aktiviteye sahiptirler. Bu grup bakteriyosinler Cotter ve ark.ları (2005) tarafından Grup IIc olarak tanımlanmış olsalar da Kemperman ve ark.ları (2003) bu tarz özellik sergileyen bakteriyosinleri ayrı bir grup olarak değerlendirmişlerdir [25, 62]. Bugüne kadar sekiz adet halkasal bakteriyosin tanımlanmıştır. Bunlardan altı tanesi LAB orijinlidir (gasserisin A, reuterisin 6, enterosin AS-48, enterosin 4, karnosiklin A, laktosiklin Q). Diğer iki tanesi ise *Clostridium beijerinckii* tarafından üretilen siruların A ve *Butyrivibrio fibrisolvens* tarafından üretilen butirivibriosin AR10'dur [25, 26, 43].

Grup IIc-Diğerlerinden Farklı Bulunan Bakteriyosinler

Bu alt gruba ait bakteriyosinler; modifiye olmamış ve diğer alt gruplara dahil olmayan lineer bakteriyosinlerdir [25, 46]. Grup IIc bakteriyosinleri çeşitli ekolojik nişlerden izole edilen geniş çeşitlilikteki antimikrobiyal peptidleri içermektedir. Laktokoksin A bu grup içerisinde

ilk izole edilen bakteriyosin olup diğer bakteriyosinler gibi homolog bir diziye sahip değildir [46]. *Propionibacterium* sp. türleri tarafından üretilen bakteriyosinlerin çoğunluğu da bu gruba girmektedir [31].

Grup III Bakteriyosinler (Bakteriyolizinler)

İsı dayanıklılığı olmayan büyük moleküler ağırlıklı antimikrobiyal peptidlerdir. *Lactobacillus helveticus* tarafından üretilen helvetisin J, *St. zooepidermicus* tarafından üretilen zoosin A, *Ent. faecalis* tarafından üretilen enterolisin A, *St. milleri* tarafından üretilen millerisin B, *Brevibacterium linens* tarafından üretilen linoisin M18 bu gruba dahil bakteriyosinlerdir [62-67]. Laktik asit bakteri suşları tarafından üretilmeyen lizostafin de bu kategoriye giren ve oldukça iyi tanımlanmış bir bakteriyosindir.

BAKTERİYOSİNLERİN YENİ YAPI-TEMELLİ SINIFLANDIRILMALARI

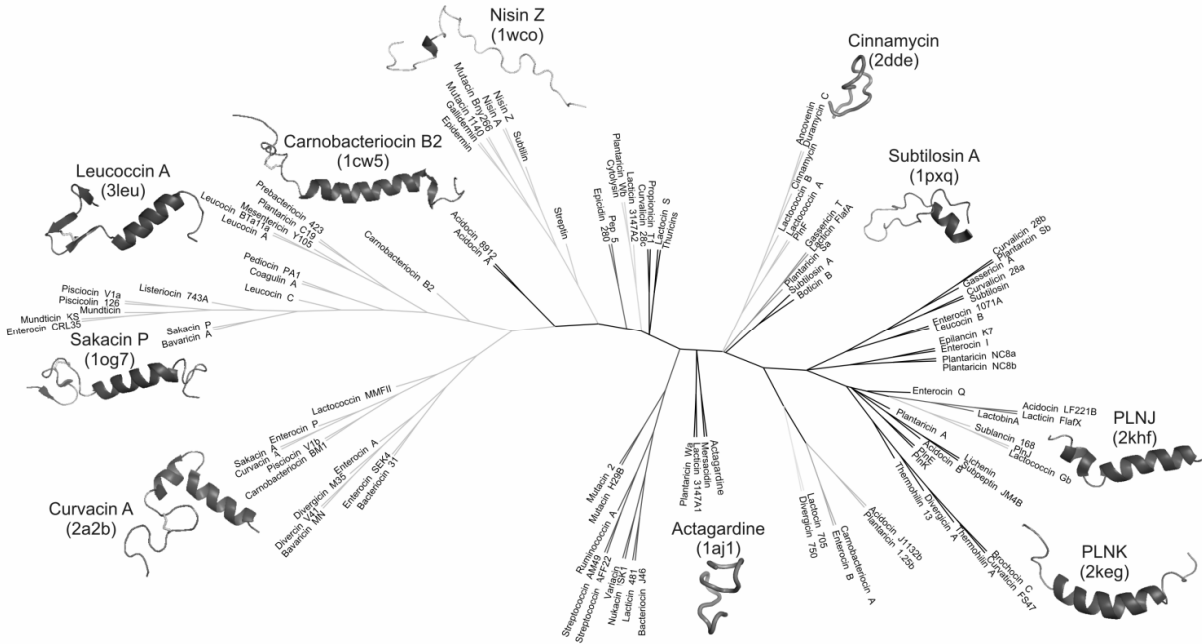
Bakteriyosin gruplarının çoğunluğu sınıflandırmada farklı kriterler dikkate alınarak oluşturulmuştur. Bu yaklaşımlar aynı bakteriyosinin birden fazla grupta farklı bir isimle bulunmasına neden olmuştur. Örneğin, bazı araştırmacılar karnobakteriyosin BM1'i piskikosin V1b ile, piskikolin 126'yı piskikosin V1a ile, kurvasin A'yı ise sakasin A ile benzer bulmuştur [68]. Bununla beraber geçerli olan sınıflandırma modellerinde bazı bakteriyosinler birden fazla gruba dahil edilmiştir. Örneğin, Lökosin A Grup IIa ve IIb, enterosin P Grup IIa, IIb ve IIc'de yer alabilmiştir [10,20, 69].

Günümüz teknolojisinde yukarıda belirtilen çelişkili sınıflandırma modelleri yapısal veriler ışığında revize edilmiş ve bakteriyosinler yeni yapı-temelli parmak izi dizi tanımlaması ile değerlendirilmiştir. Yapı-temelli yaklaşımda kullanılan aminoasit dizileri, konsensus motifleri gibi yapısal özellikler BACTIBASE veri bankasından temin edilmiş ve aminoasit dizi analizi aracı olarak SciDBMaker yazılımı kullanımıyla analiz edilmiştir [70,71]. 107 adet Gram-pozitif bakteriyosinin aminoasit dizi homolojisi ClustalW programı kullanılarak yapılmıştır. Düzenleme ise aminoasitlerin belirtilen gruplarının ([treonin ve serin-küçük nükleofil aminoasitler], [lizin, arjinin, histidin-bazik aminoasitler], [aspartik asit, asparajin, glutamik asit, glutamin-asidik aminoasitler] ve [lösin, izölösün, valin, metiyonin, alanin, glisin, prolin, fenilalanin, tirozin, triptofan-hidrofobik aminoasitler]) benzerliklerine göre yapılmıştır. 14 familya, 17 cins ve 43 tür tarafından üretilen 107 farklı bakteriyosindeki yapısal özellikleri karakterize etmek amacıyla aminoasit dizilerindeki benzerlik değerlendirilmiş ve Gram-pozitif bakteriyosinlere ait filogenetik bir ağaç oluşturulmuştur (Şekil 2). Önerilen yapısal sınıflandırmaya uygun olarak geliştirilen filogenetik ağaçta ortak olan gövdenin her dalı veya alt dalı korunmuş bir konsensus dizi motifi ile karakterize edilmekte ve bir grup veya alt grup oluşturmaktadır. Bilgisayar analizleri neticesinde her grubun bir motif konsensüs dizisi ile karakterize edildiği ve bugüne kadar bilinen fakat sınıflandırmalara dahil edilen

bakteriyosinlerin % 70'ini içeren 12 ayrı grup oluşturulmuştur [72].

Grup 1'e ait peptidlerin dizi uzunluğu 20-30 aminoasit rezidüsü arasında değişkenlik göstermektedir. Mutasin 2, laktisin 481, bakteriyosin J46, ruminokoksin A, varisin, laktisin 3147, mersasidin, aktargadin, plantarisin alfa, nukasin ISK1, mutasin H29B, streptokoksin AFF22 ve AM49 gibi 13 bakteriyosin bu grupta yer almaktadır. Bu grup, klasik sınıflandırma ile kıyaslandığında Grup I lantibiyotik tip A ve B'ye karşılık gelmektedir. Duramisin C, ankovenin ve sinnamisin gibi bakteriyosinleri içeren Grup 2 ise klasik sınıflandırma ile kıyaslandığında Grup I lantibiyotik B'ye dahil edilebilmektedir. Grup 3, 36-50 aminoasit rezidüsü arasında değişen diziyeye sahip olan

29 bakteriyosin içermektedir. Grup II'a'nın tüm üyeleri bu grupta sınıflandırılmıştır ve bir motif konsensus dizisi ile karakterize edilmişlerdir [72]. Bu grubun tüm üyeleri antilisterial aktiviteye sahiptir ve iki ana alt gruba ayrılmıştır. Altgrup 3a, laktokoksin MMFII, bakteriyosin 31, enterosin SEK4, divergisin M35, enterosin A, bavarisin MN, diversin V41, karnobakteriyosin BM1, piskikoksin V1b, enterosin P, kurvasin A ve sakasin A bakteriyosinlerini içermektedir. 10 farklı tür tarafından üretilen karnobakteriyosin B2, lökosin C, listeriosin 743A, bavarisin A, sakasin P, mundtisın, enterosin CR35, mundtisın KS, piskikolin 126, piskikoksin V1a, koagulin A, pedyosin PA1, mesenterisin Y105, lökosin A, lökosin B Talla, plantarisin C19 ve prebakteriyosin 423 ise Grup 3b şeması altında toplanmıştır.



Şekil 2. Gram-pozitif bakteriyosinlerin köklendirilmemiş filogenetik ağacı [73] (3 boyutlu yapılar <http://bactibase.pfba-lab-tun.org/main.php> adresinden temin edilmiştir. Alfa heliks ve beta döngüleri sırasıyla kırmızı ve mor renkle gösterilmiştir)

Tüm gruplandırmalarda aminoasit rezidülerindeki konsensus diziler dikkate alınmıştır. Grup 4'de 8 bakteriyosin bulunmakta olup tümü Grup I lantibiyotik tip A olarak sınıflandırılmıştır. Altgrup 4a, subtilin, nisin A, nisin Z; altgrup 4b ise streptin, epidermin, gallidermin, mutasin 1140, mutasin BNY 266 bakteriyosinlerini içermektedir. Pep 5 ve epdisin 280 Grup I lantibiyotik tip A grubuna dahil bakteriyosinler olup yapı-temelli sınıflandırma modelinde Grup 5'de yer almaktadırlar. Aynı sınıflandırmaya dahil edilen sitolizin, plantarisin W beta, laktisin 3147 A2 Grup 6'da; asidosin J 1132 beta ve plantarisin 1.25 beta Grup 7'de; karnobakteriyosin A ve enterosin B Grup 8'de; plantarisin S alfa, gasserisin T ve laktisin F ise Grup 9'da yer almıştır. Diğer sınıflandırılma şemalarında sınıflandırılmaya dahil edilemeyen ya da birden fazla grupta yer alabilen laktisin F lafX, asidosin LF 221B ve laktobin A Grup 10'a dahil edilmiştir. Grup 11'de laktosin 705 ve divergisin 750 yer alırken, laktokoksin G beta, sublansin 168 ve

PlnJ Grup 12'ye dahil edilmiştir. Bununla beraber, şekil 2 incelendiğinde bazı bakteriyosinlerin filogenetik açıdan diğer bakteriyosinlerden uzak olduğu gözlemlenmektedir. Bu durumun temel nedeni ise sınıflandırılmayan bakteriyosinler ile ilgili yapılan çalışmaların özellikle de aminoasit dizilerinin yetersiz olmasıdır [72].

Bu yaklaşım; bakteriyosinlerin % 70'den fazlası için ve aynı zamanda sınıflandırılmayan bakteriyosinler için ayrı sınıfların belirlenebilmesi açısından oldukça başarılı ve tutarlı bir sınıflandırma şeması ortaya koymuştur. Örneğin Larsen ve ark.ları (1993) tarafından benzer bulunan sakasin P, bavarisin A ile Kaiser ve Montville (1996) tarafından benzer bulunan diversin V41 ve bavarisin MN bu yaklaşım ile değerlendirildiğinde farklı bulunmuş ve ayrı sınıflandırma gruplarına yerleştirilmişlerdir [74,75]. Bununla beraber, sınıflandırma kriteri olarak yalnızca dizi yapısının

kullanıldığı yapı-temelli sınıflandırma modeli diğer bilim adamları tarafından fizikokimyasal özellikler, sisten rezidü sayısı, hedef organizma, post translasyonel modifikasyonlar, etki mekanizması gibi birçok kriterin kullanımı neticesinde oluşturulan gruplandırma sistemleri ile ters düşmektedir. Dikkat çeken nokta ise önerilen konsensus motif temelli oluşturulan bu sınıflandırma yönteminin, çalışılmış bakteriyosinlerin % 70'ini içeren güvenilir bir yöntem olması, yeni ve henüz sınıflandırılmaları dahil edilmeyen bakteriyosinlerin gruplandırılmasına imkan vermesidir [72]. Bu da yöntemin sunduğu oldukça önemli bir avantajdır.

SONUÇ

Bakteriyosinlerin sınıflandırılma çalışmaları 25 yılı aşkın bir süredir modern araştırmalar neticesinde elde edilen yapısal ve moleküler bilgiler ışığında devam etmektedir. Günümüze kadar tanımlanmış mevcut tüm bakteriyosinler düşünüldüğünde, verimli bir sınıflandırma şeması formüle etmek oldukça zordur. Bakteriyosinlerin genel sınıflandırılmaları genellikle aminoasit dizilerine, biyokimyasal özelliklerine ve etki mekanizmalarına göre yapılmaktadır. Oluşturulan bazı sınıflandırma modelleri bir bakteriyosini birden fazla sınıfta gruplandırabilmekte ya da aynı bakteriyosini farklı gruplara dahil edebilmektedir. Bu da çelişiklere neden olabilmektedir. Özellikle günümüz teknolojisinde mevcut olan yeni dizi veri bankaları güncel sınıflandırmaların oluşturulmasına izin vermektedir. Yapı-temelli dizi parmakizi yöntemi, gruplandırılmayan bakteriyosinler için yeterli diziler elde edildiği takdirde belirli gruplara hızlıca dahil edilmelerine imkan sağlayan oldukça avantajlı bir sınıflandırma şeması sunmaktadır. Sınıflandırma için tutarlı ve yeterli bir sınıflandırma modelinin oluşturulması ise özellikle bakteriyosin alanında çalışan araştırmacılar için oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

- [1] Mills, S., Stanton, C., Hill, C., Ross, R.P., 2011. New developments and applications of bacteriocins and peptides in foods. *Annual Review of Food Science and Technology* 2: 299-329.
- [2] Nes, I.F., Yoon, S., Diep, D.B., 2007. Ribozomally synthesized antimicrobial peptides (bacteriocins) in lactic acid bacteria. *Food Science and Biotechnology* 16(5): 675-690.
- [3] De Martinis, E.C.P., Alves, V.F., Franco, B.D.G.M., 2002. Fundamentals and perspectives for use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. *Food Review International* 18: 191-208.
- [4] Pasteur, L., Joubert, J., 1877. Charbon et septicemic. *Les Comptes rendus de l'Académie des Sciences* 85: 101-115.
- [5] Gratia, A., 1925. Sur un remarquable exemple d'antagonismes entre souches de colibacile. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria*, Edited by L. De Vuyst, E. J. Vandamme, Blackie Academic and Professional, England, 6-7p.
- [6] Gratia, A., Fredericq, P., 1946. Diversité des souches antibiotiques de *E. coli* et étendue variable de leur champs d'action. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie* 140: 1032-1033.
- [7] Jacob, F., Lwoff, A., Siminovitch, A. and Wollman, E.L., 1953. Definition de quelques terms relatifs a la lysogenie. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria*. Edited by L. De Vuyst, E. J. Vandamme, Blackie Academic and Professional, England, 6-7p.
- [8] Tagg, J.R., Dajani, A.S., Wannamaker, L.W., 1976. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriology Reviews* 40: 722-756.
- [9] Klaenhammer, T.R., 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochemistry* 70: 337-349.
- [10] Jack, R.W., Tagg, J.R., Ray, B., 1995. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiology Reviews* 59: 171-200.
- [11] Kiran, F., 2012. Bir laktik asit bakterisi olan *Pediococcus pentosaceus* suşu üzerinde endüstriyel kullanım açısından farklı yaklaşımlar, Doktora tezi, 190p.
- [12] Cuesta, M.C.M., Kok, J., Herranz, E., Pelaez, C., Requena, T., Buist, G., 2000. Requirement of autolytic activity for bacteriocin-induced lysis. *Applied and Environmental Microbiology* 66(8): 3174-3179.
- [13] Hechard, Y., Sahl, H.G., 2002. Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Biochimie* 84: 545-557.
- [14] Hsu Hsu, S.T., Breukink, E., de Kruijff, B., Kaptain, R., Bonvin, A. M., Nuland, N.A., 2002. Mapping the targeted membrane pore formation mechanism by solition NMR: the nisin Z end lipid II interaction in SDS micelles. *Biochemistry* 41: 7670-7676.
- [15] Kumar, B., Balgir, P.P., Kaur, B., Garg, N., 2011. Cloning and expression of bacteriocins of *Pediococcus* spp.: A review. *Archives of Clinical Microbiology* 2(3): 1-18.
- [16] Engelke, G., Gutowski-Eckel, Z., Hammelmann, M., Entian, K.D., 1992. Biosynthesis of the lantibiotic nisin: genomic organization and membrane localization of the nisB protein. *Applied and Environmental Microbiology* 8(11): 3730-3743.
- [17] Nishie, M., Nagao, J., Sonomoto, K., 2012. Antibacterial peptides "bacteriocins" an overview of their diverse characteristics and applications. *Biocontrol Science* 17(1): 1-16
- [18] Delves-Broughton, J., 1990. Nisin and its application as a food preservative. *Journal of the Society of Dairy Technology* 43 (3): 73-76.
- [19] O'Sullivan, L., Ross, R.P., Hill, C., 2002. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie* 84: 593-604.
- [20] Eijssink, V.G.H., Skeie, M., Middelhoven, H.P., Brurberg, M.B., Nes, I.F., 1998. Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 9: 3275- 3281.
- [21] Papagianni, M., Anastasiadou, S., 2009. Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications. *Microbial Cell Factories* 8 (3): 1-16.
- [22] Geis, AA., Singh, J., Teuber, M., 1983. Potential of lactic Streptococci to produce bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology* 45: 205- 211.
- [23] Kozak, W., Bardowski, J., Dobrzanski, W.T., 1978. Lacto-strpcins-acid bacteriocins produced by lactic

- streptococci. *Journal of Dairy Researches* 45: 247-257.
- [24] Klaenhammer, T.R., 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 12: 39-85.
- [25] Cotter, P.D., Hill, C. and Ross, R.P., 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews of Microbiology* 3: 777-788.
- [26] Rea, M.C., Ross, R.P., Cotter, P.D., Hill, C. 2011. Classification of bacteriocins from Gram-positive bacteria. In Prokaryotic antimicrobial peptides from genes to applications, Edited by D. Drider, S. Rebuffat, Springer, USA, 29-53p.
- [27] Jeevaratnam, K., Jamuna, M., Bawa A.S., 2005. Biological preservation of foods-Bacteriocin of lactic acid bacteria. *Indian Journal of Biotechnology* 4: 446-454.
- [28] Twomey, D., Ross, R.P., Ryan, M., Meaney, B., Hill, C., 2002. Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. In Lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications, Edited by R.J. Sizezen, J. Kok, T. Abee, G. Schaafsma, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 165-185p.
- [29] Oscariz, J.C., Pisabarro, A.G., 2001. Classification and mode of action of membrane-active bacteriocins produced by Gram positive bacteria. *International Microbiology* 4: 13-19.
- [30] Wiley, J.M., Van der , W.A., 2007. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function. *Annual Reviews of Microbiology* 61: 477-501.
- [31] Heng, N.C.K., Wescobre, P.A., Burton, J.P., Jack, R.W., Tang, J.R., 2007. The diversity of bacteriocins in Gram-positive bacteria. In Bacteriocins: Ecology and Evolution, Edited by M.A. Riley, M.A. Chavan, Springer, Berlin, 39-63p.
- [32] Pag, U., Sahl, H.G., 2002. Multiple activities in lantibiotics—models for the design of novel antibiotics? *Current Pharmaceutical Design* 8: 815-833.
- [33] Wescombe, P.A., Upton, M., Dierksen, K.P., Ragland, N.L., Sivabalan, S., Wirawan, R.E., Inglis, M.A., Moore, C.J., Walker, G.V., Chilcott, C.N., Jenkinson, H.F., Tagg, J.R., 2006. Production of the lantibiotic salivaricin A and its variants by oral streptococci and use of a specific induction assay to detect their presence in human saliva. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 1459-1466.
- [34] Ross, K.F., Ronson, C.W., Tagg, J.R., 1993. Isolation and characterization of the lantibiotic salivaricin A and its structural gene salA from *Streptococcus salivarius* 20P3. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 2014-2021.
- [35] Krull, R.E., Chen, P., Novak, J., Kirk, M., Barnes, S., Baker, J., Krishna, N.R., Caufield, P.W., 2000. Biochemical structural analysis of the lantibiotic mutacin II. *Journal of Biology and Chemistry* 275: 15845-15850.
- [36] Georgalaki, M.D., Van Den Berghe, E., Kritikos, D., Devreese, B., Van Beeumen, J., Kalantzopoulos, G., De Vuyst, L., Tsakalidou, E., 2002. Mucedocin, a food-grade lantibiotic produced by *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 5891-5903.
- [37] Sahl, H.G., Bierbaum, G., 1998. Lantibiotics: Biosynthesis and biological activities of uniquely modified peptides from gram-positive bacteria. *Annuals Review of Microbiology* 52: 41-79.
- [38] Schnell, N., Entiah, K.D., Götz, F., Horner, T., Kellner, R., Jung, G., 1989. Structural gene isolation and prepeptide sequence of gallidermin, a new lanthionine containing antibiotic. *FEMS Microbiology Letters* 58: 263-268.
- [39] Siegers, K., Heinzmann, S., Entian, K.D., 1996. Biosynthesis of lantibiotic nisin. Posttranslational modifications of its prepeptide occurs at a multimeric membrane associated lanthionine synthetase complex. *The Journal of Biological Chemistry* 271: 12294-12301.
- [40] Meindl, K., Schmiederer, T., Schneider, K., Reicke, A., Butz, D., Keller, S., Guhring, H., Vertesy, L., Wink, J., Hoffmann, H., Bronstrup, M., Sheldrick, G.M., Sussmuth, R.D., 2010. Labyrinthopeptins: a new class of carbacyclic lantibiotics. *Angewandte Chemie International Edition* 49: 1151-1154.
- [41] Marx, R., Stein, T., Entian, K.D., Glaser, S.J., 2001. Structure of the *Bacillus subtilis* peptide antibiotic subtilosin A determined by 1H-NMR and matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry. *Journal of Protein Chemistry* 20: 501-506.
- [42] Kawulka, K., Sprules, T., McKay, R.T., Mercier, P., Diaper, C.M., Zuber, P., Vederas, J.C., 2003. Structure of subtilosin A, an antimicrobial peptide from *Bacillus subtilis* with unusual posttranslational modifications linking cysteine sulfurs to alpha-carbons of phenylalanine and threonine. *Journal of the American Chemical Society* 125: 4726-4727.
- [43] Martin-Visscher, L.A., Gong, X.D., Duszyk, M., Vederas, J.C., 2009. The three-dimensional structure of Carnocyclin A reveals that many circular bacteriocins share a common structural motif. *The Journal of Biological Chemistry* 284: 28674-28688.
- [44] Ennahar, S., Sonomoto, K., Ishizaki, A., 1999. Class IIa bacteriocins from lactic acid bacteria: antibacterial activity and food preservation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87: 705-716.
- [45] Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, L.M., Prevost, H., 2006. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 70: 564-582.
- [46] Nissen-Meyer, J., Rogne, P., Oppegard, C., Haugen, H.S., Kristiansen, P.E., 2009. Structure-function relationships of the non-lanthionine-containing peptide (class II) bacteriocins produced by gram-positive bacteria. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 10: 19-37.
- [47] Hastings, J.W., Sailer, M., Johnson, K., Roy, K.L., Vederas, J.C., Stiles, M.E., 1991. Characterization of leucocin A-UAL 187 and cloning of the bacteriocin gene from *Leuconostoc gelidum*. *Journal of Bacteriology* 173: 7491-7500.
- [48] Hechard, Y., Derijard, B., Letellier, F., Ceniempo, Y., 1992. Characterization and purification of mesentericin Y105, an anti-Listeria bacteriocin from *Leuconostoc mesenteroides*. *Journal of General Microbiology* 138: 2725-2731.

- [49] Henderson, J.T., Chopko, A.L., Van Wasserman, P.D., 1992. Purification and primary structure of pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* PAC1.0. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 295: 5-12.
- [50] Nieto-Lozano, J.C., Reguera-Useros, J.I., Pelaez-Martinez, M.C., Sacristan-Perez-Minayo, G., Gutierrez-Fernandez, A.J., De La Torre, A.H., 2010. The effect of the pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* in Spanish dry-fermented sausages and frankfurters. *Food Control* 21: 679-685.
- [51] Tichaczek, P.S., Nissenmeyer, J., Nes, I.F., Vogel, R.F., Hammes, W.P., 1992. Characterization of the bacteriocins curvacin a from *Lactobacillus curvatus* Lth1174 and sakacin-P from *Lb. sake* Lth673. *Systematic and Applied Microbiology* 15: 460-468.
- [52] Aymerich, T., Holo, H., Havarstein, L.S., Hugas, M., Garriga, M., Nes, I.F., 1996. Biochemical and genetic characterization of enterocin A from *Enterococcus faecium*, a new antilisterial bacteriocin in the pediocin family of bacteriocins. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 1676-1682.
- [53] Motlagh, A.M., Holo, S., Johnson, M.C., Ray, B., Field R.A., 1992. Inhibition of *Listeria* spp. in sterile food systems by pediocin ACh, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* H. *Journal of Food Protection* 55(5): 337-343.
- [54] Vanderbergh, P.A., 1991. Pediocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici*. *Annual Meeting: Society for Industrial Microbiology*, August 4-9, 1991, Philadelphia, PA, Book of Proceedings, Abstract S101p.
- [55] Hill, C., Nes, I.N., Ross, R.P. 2011. Bacteriocins. *The 10th LAB Symposium: Thirty years of Research on Lactic acid bacteria*, August 28-September, 2011, Netherlands, 37-56p.
- [56] Papagianni, M., 2003. Ribosomally synthesized peptides with antimicrobial properties: biosynthesis, structure, function, and applications. *Biotechnology Advance* 21: 465-499.
- [57] Derksen, D.J., Boudreau, M.A., Vederas, J.C., 2008. Hydrophobic interactions as substitutes for a conserved disulfide linkage in the type IIa bacteriocins, leucocin A and pediocin PA-1. *Chemistry and Biochemistry* 9: 1898-1901.
- [58] Nes, I.F., Holo, H., Fimland, G., Hauge, H.H., Nissen-Meyer, J., 2002. Unmodified peptide-bacteriocins (Class II) produced by lactic acid bacteria. In *Peptide antibiotics: discovery, modes of action and applications*, Edited by C.J. Dutton, M.A. Haxel, H.A.I McArthur, R.G. Wax, Marcel Dekker, New York, 81-115p.
- [59] Mogi, T., Kita, K., 2009. Gramicidin S and polymyxins: the revival of cationic cyclic peptide antibiotics. *Cellular and Molecular Life Science* 66: 3821-3826.
- [60] Jimenez, M.A, Barrachi-Saccilotto, A.C., Valdivia, E., Maqueda, M., Rico, M., 2005. Design, NMR characterization and activity of a 21-residue peptide fragment of bacteriocin AS-48 containing its putative membrane interacting region. *Journal of Peptide Science* 11: 29-36.
- [61] Van Belkum, M.J., Martin-Visscher, L.A., Vederas, J.C., 2011. Structure and genetics of circular bacteriocins. *Trends in Microbiology* 19(8): 411-418.
- [62] Kemperman, R., Kuipers, A., Karsens, H., Nauta, A., Kuipers, O., Kok, J., 2003. Identification and characterization of two novel clostridial bacteriocins, circularin A and closticin 574. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 1589-1597.
- [63] Joerger, M.C., Klaenhammer, T.R., 1986. Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481. *Journal of Bacteriology* 167: 439-446.
- [64] Valdes-Stauber, N., Scherer, S., 1994. Isolation and characterization of Linocin M18, a bacteriocin produced by *Brevibacterium linens*. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 3809-3814.
- [65] Simmonds, R.S., Simpson, W.J., Tagg, J.R. 1997. Cloning and sequence analysis of zooA, a *Streptococcus zooepidemicus* gene encoding a bacteriocin-like inhibitory substance having a domain structure similar to that of lysostaphin. *Gene* 189: 255-261.
- [66] Beukes, M., Bierbaum, G., Sahl, H.G, Hastings, J.W., 2000. Purification and partial characterization of a murein hydrolase, millericin B, produced by *Streptococcus milleri* NMSCC 061. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 23-28.
- [67] Hickey, R.M., Twomey, D.P., Ross, R.P., Hill, C., 2003. Production of enterolysin A by a raw milk enterococcal isolate exhibiting multiple virulence factors. *Microbiology* 149: 655-664.
- [68] Axelsson, L.T. 1993. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In *Lactic acid bacteria*, Edited by S. Salminen, A. Vonwright, Marcel Dekker Inc., Newyork, 433p.
- [69] Eijsink, V.G.H., Axelsson, L., Diep, D.B., Havarstein, L.S., Holo, H., Nes, I.F., 2002. Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of biological warfare and communication. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81: 639-654.
- [70] Hammami, R., Zouhir, A., Ben Hamida, J., Fliss, I., 2007. BACTIBASE: a new web-accessible database for bacteriocin characterization. *BMC Microbiology* 7: 8-9.
- [71] Hammami, R., Zouhir, A., Naghmouchi, K., Ben Hamida, J., Fliss, I., 2007. SciDBMaker: new software for computer-aided design of specialized biological databases. *BMC Bioinformatics* 9: 121.
- [72] Zouhir, A., Hammami, R., Fliss, I., Hamida, J.B., 2010. A new structure-based classification of Gram-positive bacteriocins. *Protein Journal* 29: 432-439.
- [73] <http://bactibase.pfba-lab-tun.org/main.php>, BACTIBASE, erişim tarihi:01.05.2012
- [74] Larsen, A.G., Vogensen, F.K., Josephsen, J., 1993. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* MI401. *Journal of Applied Bacteriology* 75: 113-122.

Kaiser, A.L., Montville, T.J., 1996. Purification of the bacteriocin bavaricin MN and characterization of its mode of action against *Listeria monocytogenes* Scott A cells and lipid vesicles. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 4529-4535.
