



## BAKTERİYOSİNLER: ALTERNATİF GIDA KORUYUCULARI

Nefise AKKOÇ<sup>1</sup>, Pınar ŞANLIBABA<sup>2</sup>, Mustafa AKÇELİK<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, ANKARA

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi Kalecik Meslek Yüksek Okulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, ANKARA

### ÖZET

Bakteriyosinler, bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen peptit ya da protein yapısındaki bileşiklerdir ve genellikle üretici suşa yakın akraba türlere karşı antimikrobiyel etki gösterirler. Bu polipeptitler, gıda bozulması ve gıda kökenli hastalık etmeni bakterilerin gelişimini engellemekte ve bu özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde büyük önem taşımaktadırlar. Konjugatif transpozonlar ya da plazmidler tarafından aktarılabilen bu özellik, endüstriyel açıdan önem taşıyan starter kültür suşlarının geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bugüne dek tanımlanan bakteriyosinlerin çoğunun genetik ve biyokimyasal karakterizasyonu sonucunda; yapısı, fonksiyonu, biyosentez ve etki mekanizmaları hakkında bilgi sahibi olunsa da hala aydınlatılması gereken noktalar bulunmaktadır. Bu derlemede bakteriyosinlerin moleküler biyolojisi, direnç mekanizmaları ve endüstriyel uygulamaları özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyosin, Gıda korunması, Laktik asit bakterisi, Endüstriyel uygulama

## BACTERIOCINS: ALTERNATIVE FOOD PRESERVATIVES

### ABSTRACT

Bacteriocins are ribosomally synthesized peptide or proteins and usually show antimicrobial effects against close relative strains to bacteriocin producers. Since these polypeptides prevent the development of bacteria which cause food spoilage and food borne diseases, bacteriocins are important in food industry. This characteristic, which can be transferred by conjugative plasmids or transposons, allows development of the starter culture strains which are important for industry. To date, although the mode of action, biosynthesis, functions and structures were highlighted with the result of genetic and biochemical characterization there has been still discrepancy to be illuminated. In this review, molecular biology, resistance mechanism and industrial applications of different bacteriocins were summarised.

**Keywords:** Bacteriocins, Food protection, Lactic acid bacteria, Industrial applications

\*E-posta: [akcelik@science.ankara.edu.tr](mailto:akcelik@science.ankara.edu.tr)

## 1. GİRİŞ

Bakteriyosinler, bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen, protein doğasında, antagonistik etkiye sahip bileşiklerdir. Bu bileşikler, özellikle üretici türe yakın akraba olan türlere karşı bakteriyostatik veya bakteriyosidal etki gösterirler. Dar etki spektrumları yanında, farklı bakteriyosinlerin hedeflerine yönelme ve translokasyon mekanizmaları da antibiyotiklerden farklıdır. Enterik bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler, hedefi bulma ve bağlanmada BtuB gibi spesifik hücre yüzey reseptörlerinden yararlanmaktadır. Hedefe tutunma gerçekleştikten sonra, Ton ve Tol yolları gibi spesifik translokasyon mekanizmalar ile hücre içine taşınırlar [1]. Bu hedef ve translokasyon sistemlerinin spesifite göstermesi nedeni ile bakteriyosinlerin yalnız benzer reseptör ve translokasyon sistemine sahip olan az sayıda hedefi tanıdığı düşünülmektedir. Uzak akraba olan taksonların tamamen farklı yapılarda reseptörlere ve translokasyon sistemlerine sahip olması, bakteriyosinlerin üreticiye yakın akraba türlere karşı etkinliğinin ana nedenidir. Yapılan araştırmalar sonucunda, bakteriyosinlerin populasyon ve komünite düzeyinde mikrobiyel çeşitliliğin sağlanmasında rol oynadığı belirlenmiştir. Ayrıca bakteriyosinler diğer türlerin de bulunduğu bir nişte, yarışmacı floranın yayılmasını engelleme yeteneği de içermektedir [2].

Bakteriyosinlerin gıdalarda koruyucu olarak ilk kullanımları resmi olarak 1951 yılı olsa da, insanoğlu 8000 yıldır (peynir ve diğer fermente gıdaları üretmeye başladığından beri) farkında olmadan bakteriyosinlerden faydalanmaktadır. 1928 yılında çeşitli laktokok türlerinin diğer laktik asit bakterileri (LAB) üzerinde inhibitör etki gösterdikleri belirlenmiştir. 1933 yılında Yeni Zelanda’ da protein yapısında bir madde tanımlanmış ve 1947 yılında nisin olarak isimlendirilmiştir. Nisin analogu olan ve 12 amino asit kalıntısı bakımından farklılık gösteren subtilin ise 1948 yılında keşfedilmiştir. Nisin ilk olarak 1953 yılında ticari olarak İngiltere’de satışa sunulmuştur ve günümüzde yaklaşık 50 ülkede kullanılmaktadır. 1969 yılında Gıda ve Tarım Organizasyonu/Dünya Sağlık Organizasyonu gıda katkıları uzman kurulu tarafından gıdalarda kullanımının güvenli olduğu onaylanmıştır. Nisin, 1983 yılında Avrupa gıda katkı maddeleri listesinde E234 olarak numaralandırılmış (EEC 1983) ve 1988’ de FDA tarafından peynir üretiminde kullanımına izin verilmiştir [3].

## 2. BAKTERİYOSİNLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ ve SINIFLANDIRILMASI

Bakteriyosinlerin çoğunlukla Gram-pozitif bakteriler tarafından üretildiği bilinmektedir. Fakat son araştırmalar bazı Arke üyeleri tarafından da bakteriyosinlerin üretildiğini göstermiştir. Halobakterler tarafından üretilen halosinin karakterizasyonu yapılan diğer bakteriyosinler ile hiçbir dizi benzerliği belirlenmezken, *Pseudomonas aeruginosa* tarafından üretilen S pyosinin, *Escherichia coli* tarafından üretilen kolisinlerin bir kısmının, *Enterobacter cloacae* tarafından üretilen kloasinin, *Klebsiella pneumonia* tarafından üretilen klebsin ve *Serratia marcescens* tarafından üretilen marcesinin protein dizi analizlerinin karşılaştırılması sonucunda ortak atadan evrimleştikleri saptanmıştır [2].

Gram negatif bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler genel olarak mikrosinler olarak adlandırılmaktadır. Mikrosinler; protein büyüklükleri, mikrobiyel hedefleri, etki mekanizmaları ve direnç sistemleri açısından farklılıklar içermektedir. Örneğin CoIV gibi mikrosinler sadece doğal amino asitler içerirken (modifiye olmayan), mikrosin B17 ve mikrosin C7 pek çok modifikasyona uğrarlar. MccB17 heterosiklik oksalaz, tiazol halkaları ve yüksek oranda glisin kalıntıları içerirken, mikrosin C7 amino ve karboksi uçlara sahip bir heptatpeptit yapısıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda 21 amino asit büyüklüğünde bir peptit olan ve translasyon sonrası modifikasyon yolu ile olgunlaştırılan yeni bir mikrosin (mikrosin J25) tanımlanmıştır. Mikrosin J25, 58 amino asitlik büyük bir öncü peptit halinde sentezlenir. Ardından 37 amino asitlik öncü peptit proteolitik olarak yapıdan uzaklaştırılarak 21 amino asitlik aktif peptitin halka yapısı oluşturulur. Hangi mekanizmalar ile bu basamakların gerçekleştiği ve halka yapısının oluşmasını yöneten sinyaller henüz tanımlanamamıştır [4].

En kapsamlı çalışılmış gram negatif bakteriyosini *Escherichia coli* tarafından üretilen kolisindir [1]. Kolisin gen kümeleri plazmidler üzerinde kodludur ve toksinin üretiminden sorumludur. Kolisin gen kümesindeki direnç geni, toksin proteinine bağlanmak suretiyle toksini inaktive eden ve üretici hücreye spesifik bir direnç sağlayan proteini kodlarken, liziz geni hücrenin parçalanması sonucu üretilen kolisinin serbest bırakılmasını sağlayan proteini kodlar. Kolisin üretimine SOS regülasyonu aracılık eder ve çoğunlukla stres koşulları altında çalışır. Kolisin proteininin üzerinde yer alan bir reseptör bölge, hedef organizmalarda spesifik yüzey reseptörlerini saptayarak hedefe bağlanır. Bakteriyosinlerin etki mekanizmaları, hücre zarında

por oluşturma, DNA, rRNA ve tRNA'ya karşı nükleaz aktivitesi gösterme gibi esaslara dayanır. Kolisinler, gram-negatif bakteriler tarafından üretilen tüm bakteriyosinlerden farklı olarak, büyük proteinlerdir. Hücre zarında por oluşturan kolisinlerin büyüklükleri 449 – 629 amino asit arasında değişim gösterir. Nükleaz bakteriyosinlerinin amino asit sayısı ise daha geniş bir değişim aralığına (178 ile 777 amino asit içerirler) sahiptir [5].

Gram-negatif bakterilerden izole edilen pek çok bakteriyosinin, mevcut olan bakteriyosinler arasında meydana gelen rekombinasyonlar sonucu oluştuğu belirlenmiştir. Bu rekombinasyonların sıklıkla meydana gelmesi bakteriyosin proteinlerinin domain (bölge farklılaşması) yapısından dolayı kolaylaşmaktadır. Kolisinlerde merkezi domain, protein yapısının % 50'sini kapsamaktadır ve spesifik hücre yüzey proteinlerinin tanınmasında rol alır. N-terminal domaini (proteinin yaklaşık %25'ini oluşturur) proteinin hedef hücreye translokasyonundan sorumludur. Bu toksinlerin domain konfigürasyonları doğada bulunan çoğu bakteriyosinin farklılaşmasından sorumludur [6].

Gram-pozitif bakteriler de, Gram-negatif bakteriler gibi birçok farklı bakteriyosin üretmektedir. Ancak bu gruba dahil olan bakteriyosinler Gram-negatif bakterilerin bakteriyosinlerinden temelde farklılık gösterirler. Gram-pozitif bakterilerde bakteriyosinin salınmasından sorumlu transport mekanizması, Gram-negatif bakterilerin mekanizması ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde farklı bulunmuştur. Bazı bakteri grupları bakteriyosin transportu için spesifik sistemler geliştirmiş iken, bazıları sadece salgı-bağımlı salınım yolunu kullanmaktadır. Sonuç olarak Gram-pozitif bakteriler bakteriyosinlere özgü regülasyonlara sahipken, Gram-negatif bakterilerin bakteriyosinleri yalnız konakçı regülasyon sistemlerini kullanmaktadır. Gram-pozitif bakterilerde bakteriyosin üretimi, genellikle logaritmik fazdan durağan faza geçiş sırasında gerçekleşmektedir. Nisin üretimi logaritmik fazın ortalarında başlar ve hücrenin durağan faza girmesi ile en yüksek düzeye ulaşır. Ekspresyonun yoğunluğu hücre döngüsüne değil, kültür yoğunluğuna bağlıdır [7].

Evrensel bakteriyosin veri tabanında (<http://www.cck.rnu.tn/pfba/bactibase/main.php>) [7]; 39 adet lantionin içeren bakteriyosin (sınıf I), 40 adet lantionin içermeyen bakteriyosin (sınıf II) ve sınıflandırılmayan türler olmak üzere 145 bakteriyosin yer almaktadır [8].

Gram pozitif bakteriler tarafından üretilen antimikrobiyel bileşiklerin sınıflandırılmasında pek çok farklı özellik kullanılmaktadır. Peptitler, disülfid ve monosülfid (lantiyonin) bağları ve etki spektrumları esas alındığında 4 gruba ayrılır. En iyi çalışılmış bakteriyosin grubu, gıda korunmasında kullanım potansiyellerinden dolayı laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen bakteriyosinlerdir. Klaenhammer [9] bu bakteriyosinleri; moleküler ağırlıkları, ısı duyarlılıkları, enzimatik duyarlılıkları, translasyon sonrası modifiye edilen amino asitlerinin olup olmayışı ve etki mekanizmalarını esas alarak 4 grup altında sınıflandırmıştır:

**I. Grup Bakteriyosinler:** I. grup bakteriyosinlerin üyeleri, yapılarında lantiyonin (Lan) ve  $\beta$ -metillanlantiyonin gibi translasyon sonrası modifiye olan, dehidre ve ender rastlanan amino asitler bulunan lantibiyotiklerdir. Lantibiyotikler yapısal özellikleri ve antimikrobiyel aktiviteleri göz önüne alındığında A ve B olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. Tip A lantibiyotikler hedef hücrenin sitoplazmik zarını depolarize ederek etkilerini gösterirler. Ortalama büyüklükleri 21-38 amino asittir. Bu grubun en bilinen üyesi nisin'dir. Tip B lantibiyotikler, Tip A lantibiyotiklerden oldukça küçüktür. Büyüklükleri 19 amino asiti aşmamaktadır. Tip B lantibiyotikler konakçı hücre enzimlerini inhibe ederler [10].

**II. Grup Bakteriyosinler:** Bu grupta yer alan bakteriyosinler küçük, 30-60 amino asit kalıntısına sahip, ısıya dayanıklı ve lantiyonin içermeyen peptitlerdir. Grup II bakteriyosinler de alt gruplara ayrılmıştır. Grup IIa en büyük gruptur ve bu grubun üyeleri korunmuş bir amino terminal dizi (-Tyr-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys) içermeleri ile diğerlerinden ayrılmaktadır. Tıpkı Tip A lantibiyotiklerde olduğu gibi, Grup IIa bakteriyosinler de sitoplazmik membranda por oluşturmak suretiyle etkilerini gösterirler. Bu gruba dahil olan bakteriyosinlere örnek olarak pediosin AcH [11], sakasin A [12] ve lökosin A verilebilir [13].

Laktisin F ve laktokoksin G gibi Grup IIb bakteriyosinler hedef hücre zarında por yapısı meydana getirirler ve bunun için 2 farklı proteine ihtiyaç duyarlar. Bir diğer alt grup ise salgı sinyallerine bağlı olarak üretilen peptitler olan Grup IIc bakteriyosinlerdir [10].

**III. Grup Bakteriyosinler:** Bu grupta yer alan bakteriyosinler büyük, ısı duyarlı proteinlerdir. Helvetisin J ve V [14], laktasin B [15] bu grubun en bilinen üyeleridir.

**IV. Grup Bakteriyosinler:** Bu grupta yer alan glikoproteinler (laktosin 27) ya da lipoproteinler (lakstrepsinler) aktiviteleri için protein doğasında olmayan yapılara ihtiyaç duyarlar [16, 17].

### 3. BAKTERİYOSİNLERİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

LAB' ların bakteriyosin üretiminden sorumlu genlerinin konjugatif transpozonlar ya da plazmidler gibi transfer edilebilen elementler ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bakteriyosinler N-terminal öncü peptide sahip inaktif pre-peptit halinde sentezlenirler. Öncü peptidin üretici hücrede inaktif formda kalması, taşıyıcılar ile interaksiyonunu sağlamakta ve modifikasyon sistemleri tarafından tanınmasında rol oynamaktadır [18]. Peptit genellikle taşıma sistemleri ve nadiren de hücrenin genel salgı sistemleri ile hücre dışına taşınırken, kırılma gerçekleşir. Öncü dizisi bulunmayan çok az sayıda bakteriyosin tanımlanmıştır [19]. Bakteriyosinlerin yapısal genleri ve direnç genlerinin çoğunlukla aynı operonda ya da birbirine yakın operonlarda kodlu olduğu bilinmektedir [20].

Bakteriyosin üretimi, yaşadığı popülasyonda üretici türe pek çok avantaj sağlarken (yarışmada olduğu diğer türlerin öldürülmesi gibi), birtakım zararlara da yol açmaktadır. Bu zararlar diğer hücre fonksiyonları için ihtiyaç duyulan enerjinin kullanılması gibi sonuçlar doğurabilirken, *Escherichia coli*' nin de dahil olduğu pek çok Gram-negatif bakteride bakteriyosinin salınması için hücre ölümü ile de sonuçlanabilir. Bu gibi zararlar; bakteriyosin üreticisi, bakteriyosin duyarlı ve dirençli türlerin bir arada bulunduğu popülasyonlarda kritik önem taşımaktadır [2].

Bakteriyosinler kimyasal yapılarındaki çeşitlilikten dolayı canlı hücreler için zorunlu olan farklı fonksiyonları (transkripsiyon, translasyon, replikasyon ve hücre duvarı biyosentezi) etkilemekle birlikte, temel bakterisidal etkilerini, membranda kanal ya da por yapıları oluşturarak duyarlı hücrelerin enerji potansiyellerini bozmak suretiyle gösterirler. Örneğin; mersasidin, lipid II ile etkileşerek hücre duvarı sentezini, mikrosin J25 bakteriyel RNA sentezini ve duramisin-C bakteriyel fosfolipaz A2'yi inhibe etmek suretiyle etkisini göstermektedir. Nisin gibi diğer bakteriyosinler ise, hedef bakteriyi öldürmek için birden fazla mekanizma (membranda por yapısı oluşturma ve hücre duvarı sentezini bozma) kullanmaktadır. Sınıf I laktisin 3147 ve sınıf II laktisin F gibi iki peptitli bakteriyosinler, iyon sızıntısına neden olmak ve /veya hücre ATP

üretimini engellemek suretiyle antimikrobiyel etkisini göstermek için peptitlerin ikisine birden ihtiyaç duyar [8].

Bakteriyosinler ribozomal olarak sentezleniyor olsalar da son transkript aktif hale gelmeden önce modifiye edilmelidir. Modifikasyondan sorumlu genler genellikle yapısal genlerle yakın ilişkilidir. Lantibiyotikler bakteriyosin grupları içinde en kapsamlı modifikasyonu geçiren grup özelliği göstermektedir. Hücre zarında yer alan Lan B proteini lantibiyotik üreticileri tarafından transkribe edilir ve bakteriyosinler hücre dışına taşınmadan önce modifikasyonları gerçekleştirilir. Lan C ise lantibiyotiklerin yapısında yer alan tiyoeter bağlarının oluşumundan sorumludur. Lantibiyotiklerin biyosentezinde C-terminal propeptide bağlı N-terminal lider peptitlerin varlığı lantibiyotikler için karakteristik bir özelliktir. Başlangıçta, lider peptitlerin translasyon sonrası modifikasyonda rol alan enzimler için bağlanma bölgesi olarak görev aldıkları düşünülüyse de, henüz modifiye edilmemiş peptitler ile yapılan deneysel çalışmalar sonucunda bu peptitlerin bağlanma ve modifikasyon özelliklerini sürdürdükleri gözlenmiştir [21].

Lantibiyotiklerin translasyon sonrası modifikasyonlarında, nadir olarak rastlanan aminoasitler yer almaktadır. Serin ve treonin sırasıyla dehidroalanin ve dehidrobutirini oluşturmakta, oluşan bu aminoasitler ise lantionin ve metillantionin (Lan/MeLan) köprülerini tesis etmek üzere katlanmaktadır. Bu köprüler üzerinden de sistein-tiyol grupları taşınmaktadır [22]. Lantibiyotik yapısında olmayan propeptitler de öncü peptidin ayrılması suretiyle modifiye edilir. Bu modifikasyonlar hücre zarından salınma ve taşınma açısından önemlidir [23].

Bakteriyosinler hücre içinde sentezlendikten sonra, aktivitelerini gösterecekleri bölgelere, hücre dışına taşınmalıdır. Bu taşımada farklı sistemler rol almaktadır. Grup I ve Grup II' ye dahil olan bakteriyosinlerin çoğu hücre dışına ABC taşıma sistemi aracılığı ile taşınmaktadır. ABC taşıma sistemine bağlı olan bakteriyosinler 2 temel gruba ayrılır. Bunlar; 2 adet glisin öncüsüne sahip olan ve sec yapısı içermeyen öncü moleküle sahip bakteriyosinlerdir. İki glisin öncüsüne sahip olan bakteriyosinler çoğunlukla Grup II bakteriyosinleridir. Ancak bazı lantibiyotikler de bu gruba dahil edilmektedir. Bu bakteriyosinler ABC taşıma sisteminin nadir rastlanan bir formu tarafından hücre dışına salınmaktadır. Bu özel form 150 aminoasit kalıntısına sahip N-terminal

öncü peptitten oluşur ve 2'li glisin öncüsünü ayırmak suretiyle proteolitik aktivite gösterir. Salınma ile eş zamanlı olarak, bu özel ABC taşıma sistemi öncü peptidi kırmak suretiyle bakteriyosinleri aktifleştirir. Bu salgılanma işlemi esnasında yardımcı proteinlere ihtiyaç duyulur. ABC taşıma sistemleri lantibiyotikleri farklı tipte öncüler ile salgılamaktadır. Bu öncüler, N-terminal proteolitik aktiviteye sahip değildir ve öncülerin kaldırılmasında tıpkı nisin sistemlerinde rastlandığı gibi, Nis P benzeri proteazlar rol almaktadır [20].

Nisinde de olduğu gibi, bazı durumlarda Lan oluşumu için Lan C'ye ihtiyaç duyulduğunda, Lan B proteini serin ve treoninlerin ilk dehidrasyonlarını gerçekleştirir. Bazı lantibiyotikler (örneğin; laktisin 481) Lan M olarak adlandırılan tek bir enzime sahiptir. Laktisin 3147' de olduğu gibi iki farklı bileşene sahip lantibiyotiklerde her bir peptit için bir adet olmak üzere 2 Lan M enzime ihtiyaç duyulur [24]. Lantibiyotiklerin hücre dışına taşınmasında ABC taşıyıcı sistemi (ATP bağlayıcı kaset) ve Lan T rol almaktadır. Bu iki farklı yapıdan biri ön-peptidi tanıırken, diğeri enerji eldesi için ATP'yi hidrolize eder. Grup Ia lantibiyotiklerinde bir serin proteaz (Lan P) hücreden dışarı taşınmadan hemen önce ya da taşındıktan hemen sonra öncü peptidi uzaklaştırmaktadır. Bu durum Grup Ib lantibiyotiklerinde biraz farklıdır. Farklık, bu gruptaki lantibiyotiklerin 2 adet glisin koparıma bölgesi içermeleri ve Lan T tarafından dışarı salınırlarken eş zamanlı olarak yapıdan uzaklaştırılmalarından ileri gelmektedir [25].

#### 4. BAKTERİYOSİNLERE KARŞI DİRENÇ

Bakteriyosinlerin hedef aldığı bakterilerin zaman içerisinde o bakteriyosine karşı direnç geliştirme olasılıkları, gıda korunmasında etkin olarak kullanımları konusunda bazı endişelere yol açmaktadır. Bu konudaki çalışmalar, özellikle nisin ve bazı sınıf IIa peptitleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. *L. monocytogenes*'in nisine doğal (spontaneous) direnç sıklığı  $10^{-2}$ - $10^{-7}$  arasında değişim gösterirken, nisin dirençli *Streptococcus pneumoniae* mutantları lantibiyotiklere seri halde maruz bırakıldıklarında direnç geliştirdikleri belirlenmiştir. Hücrelerin nisine karşı geliştirdikleri özel direnç mekanizmaları tam olarak belirlenememekle birlikte, lipid II yapısındaki farklılıkların bu dirençte rol oynadığı düşünülmektedir. Yürütülen son çalışmalar direnç sistemlerinde hücre zarının yükünün en önemli faktörlerden biri olduğunu ortaya çıkarmıştır [26].



Başlangıçta, lantibiyotiklere karşı direncin nisin için *nisI* ve subtilin için *spaI*'de olduğu gibi direnç genleri tarafından kodlanan proteinler aracılığı ile sağlandığı düşünülmekteydi. Ancak daha sonra, bu bakteriyosinlere karşı direncin çok sayıda proteinin etkisiyle ortaya çıktığı, diğer genlerdeki delesyonlar sonucunda ise konak direnç sisteminin oluştuğu belirlenmiştir. Örneğin; nisin üreticisi olmayan, nisin dirençli *L. lactis* suşu NisI proteinini kodlayan genetik elemanlara sahip değildir. Ancak *nisF*, *nisE* ve *nisG* ile benzer dizilere sahiptir. Bu nedenle suşun nisine karşı dirençli olduğu düşünülmektedir. *nisG* delesyonu hücrelerin nisin direncinin düşmesine neden olmaktadır. Çok sayıda çalışma yapılmasına karşın, konakçının direnç proteinlerinin üretici organizmayı kendi bakteriyosinine karşı nasıl koruduğu henüz aydınlatılamamıştır [27].

## 5. BAKTERİYOSİNLERİN KULLANIM ALANLARI

Bakteriyosinler genel olarak gıdaların korunmasında kullanılsa da, lantibiyotiklerin toksik etkilerinin olmayışı ve Gram-pozitif insan ve hayvan patojenlerine karşı aktiviteye sahip olmaları klinik etkilerinin de araştırılmasına öncülük etmektedir. Bakteri grupları içerisinde laktik asit bakterilerini (LAB) oluşturan; *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* cinsleri tarafından üretilen bakteriyosinler antibiyotiklerin geliştirilmesi açısından en umut verici gruptur. LAB' lar uzun yıllardır probiyotik ve gıda koruyucusu olarak kullanılmaları nedeniyle LAB kökenli bakteriyosinlerin oral ve gastrointestinal antibiyotikler olarak kullanılmaları olasıdır [28, 29, 30]. Bazı lantibiyotiklerin etki mekanizmalarının kesin olarak belirlenmesi ve yeni tanımlanan bir mekanizma ile çoklu-ilaç dirençliliğine sahip patojenlere karşı aktiviteye sahip olmaları, tedavi amacı ile kullanımlarına olanak sağlamaktadır. Örneğin iki peptitli laktisin 3147 *Staphylococcus aureus* (methisillin dirençli *S. aureus* da dahil), enterokoklar (VRE dahil), streptokoklar (*S. pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus mutans*) *Clostridium botulinum* ve *Propionibacterium acnes* gibi bakteri türlerine karşı in vitro etkinliğe sahiptir [29]. Bu nedenle gıdaların korunmasında kullanımının yanı sıra, mastitis enfeksiyonlarının önlenmesinde de büyük önem taşımaktadır [31]. Ayrıca hayvan modelleri ile yapılan in vivo denemeler sonucunda *S. pneumoniae* ve MRSA'nın neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde lantibiyotiklerin oldukça başarılı olduğu bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, tavuk kursağından izole edilen bakteriyosin üreticisi *Enterococcus faecium* J96 suşunun *S. pullorum* ile enfekte olmuş tavuklarda koruyucu etkiler gösterdiği belirlenmiştir.

Nisin ve mersasidin lipid II' ye bağlanmak suretiyle aktivite göstermektedir. Lipid II vankomisin gibi tedavi amacıyla kullanılan antibiyotiklerin de hedef aldığı bir moleküldür. Ancak yapılan araştırmalarda, vankomisinin spesifik inhibitör aktivitesinin mersasidini etkilemediği belirlenmiştir. Bunun nedeninin mersasidinin, lipid II'ye vankomisinin bağlandığı bölgenin dışındaki bir bölgeden bağlanması olduğu düşünülmektedir. Dolayısı ile mersasidin, vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) ile mücadelede kullanılma potansiyeli taşıdığı gibi, tedavide yeni nesil antibiyotiklerin geliştirilmesine öncülük edecektir. Geleneksel antibiyotikler ile kıyaslandıklarında, antimikrobiyel peptidlere (AMP) karşı direnç gelişme olasılığı daha düşük olsa da, AMP'lere karşı geliştirilen direnç mekanizmaları tanımlanmıştır. Bu durum AMP'ler aracılığı ile ilaç geliştirilmesini sınırlandırmaktadır [32, 33].

Gıda uygulamalarında kullanılmak üzere bakteriyosin araştırmaları yapıldığında, izole edilen bakteriyosinin kullanıma uygun bulunması için bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir; üretici suş GRAS statüsünde, bakteriyosin patojen bakterileri de kapsayan geniş bir etkinliğe ya da spesifik patojenlere karşı inhibisyon etkinliğine sahip, ısıya dayanıklı, sağlık açısından risk taşımayan, kaliteyi ve aromayı arttırıcı özellikte olmalıdır [34].

Gıda üreticileri için en büyük avantaj güvenli ve uzun raf ömrüne sahip gıdaların üretilmesi iken, tüketiciler kimyasal koruyucuları içermeyen ve az işlem görmüş gıdaları tercih etmektedirler. Bakteriyosinler, gıdalarda tüketimleri güvenli olan bakteriler (GRAS) tarafından üretildikleri ve az işlem görmüş gıdalarda dahi patojen ve bozulma etmeni organizmalara karşı etkili oldukları için bu isteklere hizmet etmektedir. Ancak günümüzde ticari olarak üretilen gıdalara yalnızca pediosin PA1/AcH ve nisinin ilavesine izin verilmektedir. Gıdaların kimyasal kompozisyonu ve fiziksel koşulları, bakteriyosinlerin aktivitesi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Örneğin nisin; pH 2 'de pH 8 'e nazaran 228 kat daha çözüdür [35].

Bakteriyosinler; fermente gıdalarda in situ bakteriyel kültürler tarafından bakteriyosinin ürettirilmesi, yarı saflaştırılmış (örneğin nisaplin) ya da saflaştırılmış bakteriyosinlerin direk olarak gıdalara eklenmesi veya bakteriyosin üreticisi türlerin gıdalara eklenmesi ile gıdalara ilave edilebilir. Bakteriyosinler gıda güvenliğini ya da bozulmanın engellenmesini sağlamanın yanında kalitenin artırılması amacı ile de gıdalara katılmaktadır. Bakteriyosinler peynir ve şaraplara dışarıdan bulaşan ve starter flora özelliğinde olmayan LAB (NSLAB) 'lar gibi floraların kontrol

altına alınması amacıyla kullanılabilir. NSLAB'ın peynirde kontrolsüz gelişimi sonucunda, kalsiyum-D-laktat kristallerinin oluşumu, kötü lezzet gelişimi ve yapısal bozuklukların oluşumu nedenleriyle büyük ekonomik kayıplar yaşanmaktadır. Bakteriyosin üreticisi starter kültürler bu problemlerin ortadan kaldırılmasında etkin rol oynamaktadır [36]. Ancak laktobasiller ve peynirlerde bulunan diğer starter kültürler ile kırmızı şarapların bir kısmında mevcut olan *Leuconostoc oenos* ve *Pediococcus damnosus* gibi bakteriler aromayı arttırdıkları için NSLAB'ların tamamen eliminasyonu her zaman tercih edilmemektedir. Bu sorunun üstesinden gelmek için bakteriyosin üreticisi starter kültürler ile birlikte artan bakteriyosin konsantrasyonlarına maruz bırakmak suretiyle bakteriyosin duyarlılıkları azaltılmış suşları içeren iki-kültür sistemi kullanılmaktadır [37].

## 6. SONUÇ

Mikroorganizmaların sahip olduğu savunma sistemleri arasında, pratik uygulamalara uygunluğu nedeni ile, en detaylı çalışılan ajanlar bakteriyosinlerdir. Bakteriyosin savunma sistemlerinin mekanizmasının evrimleşme süreçleri ve ekolojik rolleri ile ilgili bilgiler istenilen düzeyde değildir. Ancak doğada fazla miktarda ve çok çeşitte bulunmaları, söz konusu bileşikler üzerinde çalışmayı kolaylaştırmaktadır. Bakteriyosin proteinleri, etki mekanizmaları, bunları kodlayan gen kümeleri ve genlerin regülasyon mekanizmaları tamamen aydınlatıldığında nasıl bu denli etkili toksinler olabildikleri sorusuna da yanıt bulunacaktır. Bakteriyosinler ile ilgili araştırmaların sürdürülmesi insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Bu alanda çalışmalar devam ettiği sürece, bakteriyosinler ile ilgili bulgularımız zaman içerisinde artacak ve yeni türler tanımlanacaktır. Bakteriyosinlerin moleküler biyolojisi üzerine bilgiler arttıkça, gıda koruyucusu ve terapötik ajanlar olarak kullanım olanakları yaygınlık kazanacaktır.

## KAYNAKLAR

1. James R., Kleanthous C., Moore G.R., Microbiology, 142, 1569, 1996.
2. Riley M.A., Wertz J.E., Annu Rev Microbiol, 56, 117, 2002.
3. Cotter P.D., Hill C., Ross R.P., Nature Reviews Microbiology, 3, 777, 2005.
4. Gouaux E., Structure, 5, 313, 1997.
5. Silverstein K.A., Graham M.A., Paape T.D., VandenBosch K.A., Plant Physiology, 138, 600, 2005.
6. Thevissen K., Kristensen H.H., Thomma B.P., Cammue B.P., IE. François, Drug Discovery Today, 12, 966, 2007.
7. Hammami R., Zouhir A., Ben Hamida J., Fliss I., BMC Microbiology, 7, 89, 2007.

8. Linde A., Ross C.R., Avis E.G., Di L., Blecha F., Melgarejo T., *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 247, 2008.
9. Klaenhammer T.R., *Biochemie*, 70, 337, 1988.
10. Guder A., Wiedemann I., Sahl H.G., *Biopolymers*, 55, 62, 2000.
11. Bhunia A.K., Johnson M.C., Ray B., *J Ind Microbiol*, 2, 319, 1987.
12. Schillinger U., Lucke F.K., *Appl Environ Microbiol*, 55, 1901, 1989.
13. Hastings J.W., Sailer M., Johnson K., Roy K.L., Vederas J.C., Stiles M.E., *J Bacteriol*, 172, 7491, 1991.
14. Joerger M.C., Klaenhammer T., *J Bacteriol*, 167, 439, 1986.
15. Vaughan E.E., Daly C., Fitzgerald G.F., *J Appl Bacteriol*, 73, 299, 1992.
16. Upreti G.C., Hinsdill R.D., *Antimicrob Agents Chemother*, 7, 139, 1975.
17. Kozak W., Bardowski J., Dobrzanski W.T., *Bull Acad pol Sci*, 24, 217, 1977.
18. Xie L., Miller L.M., Chatterjee C., Averin O., Kelleher N.L., van der Donk W.A., *Science*, 303, 679, 2004.
19. Diep D.B., Nes I.F., *Curr Drug Targets*, 3, 107, 2002.
20. Nes I.F., Diep D.B., Havarstein L.S., Brurberg M.B., Eijsink V., Holo H., *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 113, 1996.
21. Kupke T., Gotz F., *Antonie van Leeuwenhoek*, 69, 139, 1996.
22. Ingram L.C., *Biochim Biophys Acta*, 224, 263, 1970.
23. Ehrmann M.A., Remiger A., Eijsink V.G., Vogel R.F., *Biochim Biophys Acta*, 1490, 355, 2000.
24. McAuliffe O., Ross R.P., Hill C., *FEMS Microbiology Reviews*, 25, 285, 2001.
25. Geißler S., Gotz F., Kupke T., *Journal of Bacteriology*, 178, 284, 1996.
26. Kramer N.E., Smid E.J., Kok J., Kruijff B., de Kuipers O.P., Breukink E.J., *FEMS Microbiol Lett*, 239, 157, 2004.
27. Cleveland J., Montville T.J., Nes I.F., Chikindas M.L., *Int J Food Microbiol*, 71, 1, 2001.
28. De Vuyst L., Leroy F., *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 13, 194, 2007.
29. Sit C.S., Vederas J.C., *Biochemistry and Cell Biology*, 86, 116, 2008.
30. Rossi L.M., Rangasamy P., Zhang J., Qiu X.Q., Wu G.Y., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 1060, 2008.
31. Gardiner G.E., Rea M.C., O'Riordan B., O'Connor P., Morgan S.M., Lawlor P.G., Lynch P.B., Cronin M., Ross R.P., Hill C., *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 7103, 2007.
32. Gunn J., *Trends in Microbiology*, 16, 284, 2008.
33. Kraus D., Peschel A., *Future Microbiology*, 3, 437, 2008.
34. Holzapfel W.H., Geisen R., Schillinger U., *Int J Food Microbiol*, 24, 343, 1995.
35. Liu W., Hansen J.N., *Appl Environ Microbiol*, 56, 2551, 1990.
36. O'Sullivan L., Ross R.P., Hill C., *J Appl Microbiol*, 95, 1235, 2003.
37. Martinez-Cuesta C., Requena T., Pelaez C., *FEMS Microbiol Lett*, 217, 109, 2002.