



MAKÜ FEBED
ISSN Online: 1309-2243
<http://dergipark.gov.tr/makufebed>
DOI: 10.29048/makufebed.342554

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 8(Ek Sayı 1): 239-244 (2017)

The Journal of Graduate School of Natural and Applied Sciences of Mehmet Akif Ersoy University 8(Supplementary Issue 1): 239-244 (2017)

Derleme Makale / Review Paper

Nisinin Modifikasyonu

Ezgi DEMİR ÖZER*, Metin YILDIRIM

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Niğde

Geliş Tarihi (Received): 10.10.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 09.11.2017

✉ Sorumlu Yazar (Corresponding author*): ezgidemirozer@gmail.com

☎ +90 388 2252304 📠 +90 388 2250112

ÖZ

Bakteriyosinlerin lantibiyotikler sınıfında yer alan antimikrobiyal peptit nisin, *Lactococcus lactis* tarafından üretilir ve Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Nisin doğal bir koruyucu olarak, peynir, sıvı yumurta, salata sosları, konserve, et ve ürünleri gibi gıdalarda bakteri gelişimini kontrol altına almak amacıyla kullanılmaktadır. İnsanlar ve diğer memeliler için toksik etkisi bulunmayan nisin, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından "GRAS" (Generally Recognized as Safe - Genel Olarak Güvenli Kabul Edilebilir Ürün) statüsünde kabul edilmiş ve ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından da gıda katkı maddesi olarak onaylanmış bir bakteriyosindir. Doğal bir koruyucu olmasına karşın nötr ve hafif alkali çözeltilerde çözünürlüğünün düşük, antimikrobiyal spektrumunun sınırlı, üretim maliyetinin yüksek ve proteolitik enzimler tarafından kolayca parçalanabilir olması gibi nedenlerle nisinin gıda koruyucusu olarak uygulanabilirliği sınırlı kalmaktadır. Bu yüzden genetik ve kimyasal modifikasyonları kapsayan çeşitli uygulamalarla sözü edilen olumsuzluklar giderilmeye çalışılmaktadır. Bu derlemede doğal bir koruyucu olan nisinin modifiye edilmesinde uygulanan farklı yöntemler ve elde edilen bulgulara değinilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nisin, Gıda koruyucusu, Kimyasal modifikasyon, Genetik Modifikasyon

Modification of Nisin

ABSTRACT

Bacteriocin nisin, an antimicrobial lantibiotic peptide, is produced by *Lactococcus lactis* and is effective against Gram positive bacteria. Nisin is used as a natural preservative to control the growth of bacteria in foods, such as cheese, liquid egg, salad dressings, canned foods, meat and meat products. Nisin has been awarded the "GRAS" (Generally Recognized as Safe) designation by the United States Food and Drug Administration (FDA), and also has been approved as a food additive by the World Health Organization (WHO) because of its non-toxic nature to humans and other mammals. Although nisin is a natural preservative, its application as a food preservative is limited due to its low solubility in neutral and slightly alkaline solutions, restricted antibacterial spectrum, high production cost, and high sensitivity to proteolytic enzymes. Therefore, attempts are being made to overcome the problems mentioned above with various applications including genetic and chemical modifications. In this review, different methods applied in the modification of nisin, and the findings obtained are discussed.

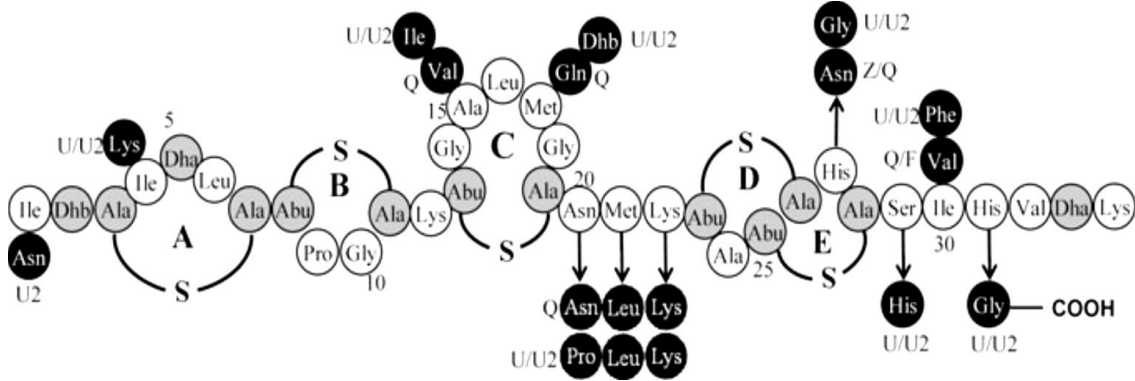
Keywords: Nisin, Food Preservative, Chemical Modification, Genetic modification

GİRİŞ

Tüketicilerin doğal ve katkı maddesi içermeyen ürünlere gösterdikleri talepteki artış nedeniyle laktik asit bakterileri (LAB) ve bakteriyosinler potansiyel gıda koruyucusu olarak önem kazanmıştır (Marth, 1998; Cleveland ve ark., 2001). Bakteriyosinler, ribozomal olarak sentezlenip, biyosentez sonrası değişime uğrayan (post-translationally modified), küçük katyonik, hidrofobik veya amfifilik karakterli, insan sindirim sistemi proteazları tarafından parçalanabilen, geniş bir pH aralığında aktif olan ve genellikle ısıya dirençli gösteren doğal antimikrobiyal peptidler ve/veya proteinlerdir (Klaenhammer, 1993). Nisin, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* tarafından kimyasal bir savunma sistemi olarak rekabet içerisinde bulunduğu mikroorganizmalara karşı üretilen bir bakteriyosindir. Şu ana kadar nisinin A, Z, Q, F, U ve U2 olmak üzere 6 doğal çeşidi tanımlanmıştır (Şekil 1). Nisin A, Z, Q ve F *Lactococcus lactis* suşları tarafından, nisin U ve U2 ise *Streptococcus uberis* tarafından üretilmektedir (Field ve ark., 2012). Gıda katkı maddesi olarak ticari boyutta kullanılan ilk bakteriyosin olan nisin Avrupa Birliğinde gıda koruyucusu olarak kullanımına izin verilen tek doğal antimikrobiyaldir (Galvez ve ark., 2007). Nisin, ilk kez 1953 yılında İngiltere’de satışa sunulmuştur (De Vuyst ve

Vandamme, 1994) Günümüzde sebze, süt ve et ürünleri gibi gıda maddelerinin üretiminde kullanılmaktadır (Yang ve ark., 2014). Gıda ve Tarım Örgütü ile Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO, 2013) tarafından vücut ağırlığı başına (kg) günlük alınabilecek nisin düzeyi (ADI değeri) 2 mg olarak belirlenmiştir.

Yapısal, fizikokimyasal ve moleküler özellikler temelinde LAB tarafından üretilen bakteriyosinler sınıf I (ısıya dirençli modifiye küçük peptidler, lantibiyotikler), sınıf II (ısıya dirençli modifiye edilmemiş küçük peptidler, lantionin içermeyenler) ve sınıf III (ısıya duyarlı büyük proteinler) olmak üzere 3 ana gruba ayrılmaktadır (Zacharof ve Lovitt, 2012). Sınıf I lantibiyotikler grubunda yer alan nisin 3,5 kDa moleküler ağırlıkta olup 34 aminoasit içermektedir (Parada ve ark., 2007; Plat ve ark., 2011). Nisinin birincil yapısı 1971 yılında Gross ve Morell tarafından belirlenmiştir (Gross ve Morell, 1971; Guiotto ve ark., 2003). Lantibiyotikler, dehidroalanin (Dha), dehidrobütirin (Dhb), lantionin ve β -metil-lantionin gibi ender aminoasit gruplarını içerirler (Breukink ve de Kruijff, 1999; Koponen ve ark., 2002). Nisin, ender rastlanan aminoasitler içermesinden dolayı düşük pH değerlerinde otoklavlanırsa bile aktivitesini koruyabilmektedir (Hansen, 1994; Guiotto ve ark., 2003).



Şekil 1. Nisin çeşitlerinin aminoasit dizilimleri (Field ve ark., 2008).

Nisinin iki farklı mekanizma ile antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir. Birinci mekanizmada nisinin bakteriyel hücre duvarı sentezi için elzem öncül çapraz bağlayıcı molekül olan Lipit II'ye bağlanarak bakteri hücre duvarı sentezini önlediği; ikincisinde ise lipit II'ye bağlandıktan sonra nisinin C-terminal kısmını fosfolipit membrana geçirip gözenek oluşturacak şekilde komplekslere dönüştüğü belirtilmiştir. Oluşan gözenekler iyon dengesinin bozulmasına ve sonuçta bakteri hücresinin ölümüne yol açmaktadır (Breukink ve de Kruijff, 2006; Slootweg ve ark., 2013). Diğer bakteriyosinlere oranla daha yüksek bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olan nisinin minimum inhibisyon konsantrasyonunun 10 $\mu\text{g/L}$ (3 nM) kadar düşük olduğu bildirilmiştir (Kuipers ve ark., 1995). Ayrıca

metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve vankomisine dirençli enterokoklar gibi antibiyotiklere dirençli Gram pozitif koklara karşı etkinliği nedeniyle nisinin tedavi amaçlı kullanım olanağı da bulunmaktadır (Brumfitt ve ark., 2002; Dischinger ve ark., 2014).

Nisinin Modifikasyonu

Nisin, doğal bir koruyucu olarak gıda endüstrisinde ve antibiyotiklere dirençli bakterilere karşı olan etkinliği nedeniyle sağlık endüstrisinde kullanım olanağına sahiptir. Ancak nisinin sahip olduğu bazı özellikler kullanımını sınırlandırmaktadır. Nisin proteolize karşı duyarlı olup ağız yoluyla alındığında zayıf bir biyo-elverişliliğe sahiptir. Bu nedenle nisinin klinik kullanımı kısıtlıdır (Maher ve ark.,

2009). Nisinin pH 5-7 aralığındaki ısı stabilitesi düşüktür. Ayrıca asidik koşullarda yüksek bir çözünürlüğe (pH 2'de 57 mg/mL) sahipken nötr ve alkali koşullardaki çözünürlüğü ise çok düşüktür (pH 8-12 aralığında 0,25 mg/mL) (Liu ve Hansen, 1990). Nisin gıda bileşenleriyle etkileşime girebilmektedir (Aasen ve ark., 2003; Lopes ve ark., 2017). Nisinin antimikrobiyel spektrumu genel olarak üretici bakterinin yarışma içerisinde bulunduğu mikroorganizmalarla sınırlıdır (Klaenhammer, 1993). İlave olarak düşük üretim, yüksek üretim maliyeti, gıda koşullarına dayanıksızlık gibi olumsuzluklar nisinin gıda endüstrisinde kullanımını kısıtlayan başlıca etmenlerdir. Bu yüzden çeşitli genetik ve kimyasal modifikasyonlarla sözü edilen olumsuzluklar giderilmeye çalışılmaktadır.

Genetik Modifikasyonlar

Nisin ile ilgili biyomühendislik alanındaki çalışmalar yaklaşık 30 senedir sürmektedir. Literatür kapsamlı bir şekilde incelendiğinde, çok sayıda nisin türevi oluşturulmasına rağmen mikroorganizmalara karşı olan aktivitede sınırlı ölçüde başarı sağlandığı görülmektedir. Bu nisin türevlerinden bazıları aşağıda verilmiştir.

Nisin Z üzerinde genetik modifikasyonun gerçekleştirildiği ilk çalışmada, 17. aminoasit metiyoninin (Met-17) glutamine (Gln) ve 18. aminoasit glisin (Gly-18) treonine (Thr) dönüştürülmesiyle *Micrococcus flavus*'a karşı antimikrobiyal aktivitenin arttığı, *Bacillus cereus* ve *Streptococcus thermophilus*'a karşı ise antimikrobiyal aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca 5. aminoasit serinin (Ser-5) Thr'e ve sentez sonrası modifikasyonla da 5. aminoasit dehidroalaninin (Dha-5) dehidrobütürine (Dhb) dönüşümü sağlandığında antimikrobiyal aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir. Oluşturulan diğer mutantta Met-17'nin Gln'e ve Gly-18'in Dhb'e dönüştürülmesiyle de aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir (Kuipers ve ark., 1992). Kuipers ve ark. (1995) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, 1. aminoasit izolösin (Ile-1) triptofana (Trp), Thr-2 Ser'e, Ser-3 Thr'e, 12. aminoasit lizin (Lys-12) proline (Pro), Thr-13 sisteine (Cys), Met-17 Trp'a, 27. aminoasit asparajin (Asn-27) Lys'e ve 31. aminoasit histidin (His-31) Lys'e dönüştürülmüştür. Bu dönüşümlerden Ile-1'in Trp'a ve Thr-13'ün Cys'e dönüşümü aktivitede azalmaya yol açarken Thr-2'nin Ser'e dönüşümü ise *M. flavus* ve *Str. thermophilus*'a karşı olan aktivitede 2 katlık artış meydana getirmiştir. Lys-12'nin Pro'e dönüştürülmesi aktivitede değişiklik oluşturmadığından bu pozitif yükün nisinin antimikrobiyal aktivitesi için elzem olmadığı ancak çözünürlüğü arttırabileceği belirtilmiştir. Çalışmada oluşturulan mutantların çoğunluğunun antimikrobiyal aktivitesinde azalma gerçekleşmiştir.

Nisinin klinik amaçlı kullanımında, en büyük problem fizyolojik pH'da düşük çözünürlüğe sahip olmasıdır. Nisinin çözünürlüğünü arttırmak amacıyla Rollema ve ark.

(1995) tarafından yapılan çalışmada, Asn-27 ve His-31 aminoasitlerinin lizine dönüştürülmesi sonucu elde edilen iki mutantın nötr pH'daki çözünürlüğünün belirgin bir şekilde arttığı tespit edilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada ender aminoasitlerin antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri araştırılmıştır (van Kraaij ve ark., 2000). Bu çalışmada, biyosentez sonrası modifikasyondan önce dizideki Thr-13, Cys'e dönüştürülüp C halkasındaki tiyoeter bağlarının oluşumu engellenmiştir. NMR analizleri, bu mutantın yapısının doğal nisine oldukça benzediğini göstermiştir. Buna karşın antimikrobiyal aktivitesi oldukça azaldığından bu durum C halkasının antimikrobiyal aktivitedeki önemini göstergesi olarak kabul edilmiştir. Aynı çalışmada Ser-5 ve Met-17'nin Cys'e dönüştürülmesinin ise antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir.

Asn-20'nin Lys'e ve Met-21'in yine Lys'e dönüştürüldüğü iki ayrı mutantın Gram negatif *Shigella*, *Pseudomonas* ve *Salmonella* türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca her iki mutantın genetik olarak modifiye edilmemiş nisine göre daha yüksek çözünürlük gösterdiği saptanmıştır. Oluşturulan nisin mutantlarının *M. flavus* ve *Str. thermophilus*'a karşı aktivitelerinde azalma meydana geldiği saptanmıştır (Yuan ve ark., 2004).

Tesadüfi mutasyonlarla elde edilen 8000 nisin türevi arasında Lys-22 yerine Thr içeren varyantın insan ve sığır için patojen olan *Str. agalactiae*'e karşı yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır. Aynı çalışmada *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus* da dâhil olmak üzere bazı Gram pozitif patojen bakterilere karşı daha yüksek aktiviteye sahip Asn-20 yerine Pro, Met-21 yerine valin (Val) ve Lys-22 yerine Ser içeren nisin çeşitleri oluşturulmuştur (Field ve ark., 2008).

Field ve ark. (2012), nisin A molekülü üzerinde genetik müdahale ile üretilen ve Ser-29 yerine Gly içeren varyantın *S. aureus* üzerinde daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca Ser-29 yerine Ala, Asp ve Glu eklenen nisin varyantlarının *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Cronobacter sakazakii* gibi Gram negatif bakterilere etki gösterdikleri de tespit edilmiştir.

Zhou ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada nisinin Ile-1, Met-17 ve Val-32 aminoasitlerinde 3 farklı triptofan analogunun oluşturulmasıyla nisinin biyokimyasal özelliklerinin değiştiğini ve modifiye nisinlerin antimikrobiyal aktivitelerinin azaldığını gözlemişlerdir.

Nisinin kullanımını sınırlayan olumsuzlukların giderilmesine yönelik genetik modifikasyonlar özet halinde Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Nisine uygulanan genetik modifikasyonlar ve sonuçları

Yapılan Modifikasyonlar	Sonuçlar	Kaynaklar
Met-17 yerine Gln ve Gly-18 yerine Thr içeren nisin çeşitleri oluşturulması	<i>Micrococcus flavus</i> karşı antimikrobiyal aktivite artmış, <i>Bacillus cereus</i> ve <i>Streptococcus thermophilus</i> 'a karşı ise antimikrobiyal aktivite azalmıştır.	Kuipers ve ark., 1992
Dha-5 yerine Dhb içeren nisin çeşitleri oluşturulması	Antimikrobiyal aktivite azalmıştır.	Kuipers ve ark., 1992
Ile-1 yerine Trp ve Thr-13 yerine Cys çeşitleri oluşturulması	Antimikrobiyal aktivite azalmıştır.	Kuipers ve ark., 1995
Thr-2 aminoasitinin Ser'e dönüştürülmesi	<i>M. flavus</i> ve <i>Str. thermophilus</i> 'a karşı olan aktivitede 2 katlık artış meydana getirmiştir.	Kuipers ve ark., 1995
Ile-1, Met-17 ve Val-32 aminoasitlerinin Trp aminoasidine dönüştürülmesi	Antimikrobiyal aktivitede azalma meydana gelmiştir.	Zhou ve ark., 2016
Asp-27 ve His-31 aminoasitlerinin Lys'e dönüştürülmesi	Nisinin nötral pH'daki çözünürlüğünde artış sağlanmış ve asit katalizli kimyasal bozulmalara karşı direnç kazandırılmıştır.	Rollema ve ark., 1995
Thr-13'ün Cys'e dönüştürülmesi ve C halkasındaki tiyoeter bağlarının oluşumunun engellenmesi	Antimikrobiyal aktivite oldukça azalmıştır.	van Kraaij ve ark., 2000
Ser-5 ve Met-17'nin Cys'e dönüştürülmesi	Antimikrobiyal aktivitede artış sağlanmıştır.	van Kraaij ve ark., 2000
Asn-20'nin Lys'e ve Met-21'in yine Lys'e dönüştürülmesi	<i>Shigella</i> , <i>Pseudomonas</i> ve <i>Salmonella</i> 'ya karşı antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. <i>M. flavus</i> ve <i>Str. thermophilus</i> 'a karşı aktivitelerinde ise azalma gözlenmiştir.	Yuan ve ark., 2004
Asn-20 yerine Pro, Met-21 yerine Val ve Lys-22 yerine Ser içeren nisin çeşitleri oluşturulması	<i>Listeria monocytogenes</i> ve <i>S. aureus</i> da dâhil olmak üzere bazı Gram pozitif patojen bakterilere karşı daha yüksek biyolojik aktivite sağlanmıştır.	Field ve ark., 2008
Tesadüfi mutasyonların oluşturulması	Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkili varyantlar oluşturulmuştur.	Field ve ark., 2008
Ser-29 yerine Gly eklenmesi	<i>S. aureus</i> üzerinde daha yüksek antimikrobiyal aktivite sağlanmıştır.	Field ve ark., 2012
Ser-29 yerine Ala, Asp veya Glu eklenmesi	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Cronobacter sakazakii</i> gibi Gram negatif bakterilere karşı aktivite kazandırılmıştır.	Field ve ark., 2012

Kimyasal Modifikasyonlar

Protein ve nükleik asitler de dâhil olmak üzere büyük moleküllerin kimyasal reaksiyonlarla yapılarında değişiklikler oluşturulmasına kimyasal modifikasyon denir. Proteinlerin kimyasal modifikasyonu, bilim ve teknolojiye karşılaşılan sorunları çözüme kavuşturmak için kullanılan araçlardan birisidir (Feeney ve ark., 1982). Proteinlerin doğal yapılarının aydınlatılması, tedavi edici etkili proteinlerin oluşturulması ve yeni protein yapılarının üretilmesi gibi uygulamalarda kimyasal modifikasyondan yararlanılabilir (Spicer ve Davis, 2014).

Nisinin nötral ve hafif alkali ortamlarda yetersiz çözünmesinden ve proteolitik enzimlerle kolayca parçalanma-

sından dolayı FDA tarafından onaylı, toksik ve immünojenik olmayan polietilen glikolün nisine bağlanması ile söz konusu olumsuzlukların giderilmesine çalışılmıştır. Nisinin N-terminal-amino grubuna polietilen glikolün bağlanması sonucunda nisinin antimikrobiyal aktivitesinin tamamen kayb olduğu gözlenmiştir (Guiotto ve ark., 2003). N-terminal-amino grubunun metilasyonu sonucunda da nisinin antimikrobiyal aktivitesi kaybolmuştur (Bonev ve ark., 2004). Glikoz ile 95°C'de Maillard reaksiyonuna uğratılan nisinin antimikrobiyal etkinliğinin azaldığı ve tripsin ile hidrolizinin zorlaştığı tespit edilmiştir (Abdullah ve ark., 2010). Ancak Muppalla ve ark. (2012) tarafından tam tersi bir sonuca ulaşılmıştır. Bu araştırmacılar, radyasyon uygulamasıyla oluşturulan nisin-karbonhidrat komplekslerinin daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Asetik asit varlığında hidrojen peroksit ile oksidasyona uğratılan nisin, oksidasyon sonucunda bakterisidal etkisini tamamen kaybettiği belirlenmiştir (Wilson-Stanford ve ark., 2009). Antimikrobiyal aktiviteye zarar vermeden başarılı bir şekilde uygulanan nisin ilk C terminal modifikasyonu biotin C terminaline bağlanmasıyla gerçekleştirilmiştir (Maher ve ark., 2009). Benzer bir şekilde C

terminaline propargilamin (2-propinilamine) bağlanmasıyla modifiye edilen nisin aktivitesini koruduğu Sloomweg ve ark. (2013) tarafından bildirilmiştir.

Nisin kullanımını sınırlayan olumsuzlukların giderilmesine yönelik kimyasal modifikasyonlar Tablo 2’de özetlenerek verilmiştir.

Tablo 2. Nisine uygulanan kimyasal modifikasyonlar ve sonuçları

Yapılan modifikasyonlar	Sonuçlar	Kaynaklar
N-terminal-amino grubuna polietilen glikolün bağlanması	Antimikrobiyal aktivitenin tamamen kayıp olması	Guiotto ve ark., 2003
N-terminal-amino grubunun metilasyonu	Antimikrobiyal aktivitenin azalması	Bonev ve ark., 2004
Asetik asit varlığında hidrojen peroksit ile lantioninin oksidasyonu	Antimikrobiyal aktivitenin azalması	Wilson-Stanford ve ark., 2009
C-terminal-karboksil grubuna biotin eklenmesi	Antimikrobiyal aktivitenin etkilenmesi	Maher ve ark., 2009
Glikoz ile 95°C’de Maillard reaksiyonuna maruz bırakılması	Antimikrobiyal aktivite azalırken tripsin ile hidrolizin zorlaşması	Abdullah ve ark., 2010
Radyasyon uygulaması ile nisin-karbonhidrat kompleksinin oluşturulması	Antimikrobiyal aktivitenin artması	Muppalla ve ark., 2012
C-terminal-karboksil grubuna propargilamin bağlanması	Antimikrobiyal aktivitenin korunması	Sloomweg ve ark., 2013

SONUÇLAR

Nisin insan sağlığına olumsuz bir etkisi olmayan, geniş kullanım alanına sahip bir bakteriyosindir. Nisin antimikrobiyal etkinliğinin artırılması, kullanım alanının ve yararlılığının da artırılmasına olanak sunmaktadır. Protein mühendisliğindeki gelişmeler, nisin eczacılık ve tarım alanlarında da terapötik (tedavi edici) bir ajan olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bu yüzden nötr ve hafif alkali çözeltilerde çözünürlüğün ve antimikrobiyal spektrumun artırılması, proteolitik enzimlere karşı direnç kazandırılması gibi amaçlarla nisin modifikasyonuna yönelik gerçekleştirilecek çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından FEB 2014/21-BAGEP numaralı proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Aasen, I. M., Markussen, S., Moretro, T., Katla, T., Axelsson, L., Naterstad, K. (2003). Interactions of the bacteriocins sakacin P and nisin with food constituents. *International Journal of Food Microbiology* 87: 35-43.

Abdullah, S. U., Badaruddin, M., Ali, R., Riaz, M. N. (2010). Effect of elementary and advanced glycation products of

nisin on its preservative efficacy and digestibility. *Food Chemistry* 122: 1043-1046. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.07.065

Bonev, B. B., Breukink, E., Swiezewska, E., De Kruijff, B., Watts, A. (2004). Targeting extracellular pyrophosphates underpins the high selectivity of nisin. *Faseb Journal* 18: 1862-1869. doi: 10.1096/fj.04-2358com

Breukink, E., de Kruijff, B. (1999). The lantibiotic nisin, a special case or not?. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1462: 223-234. doi: Doi 10.1016/S0005-2736(99)00208-4

Breukink, E., de Kruijff, B. (2006). Lipid II as a target for antibiotics. *Nature reviews. Drug discovery* 5: 321.

Brumfitt, W., Salton, M. R. J., Hamilton-Miller, J. M. T. (2002). Nisin, alone and combined with peptidoglycan-modulating antibiotics: activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50: 731-734. doi: 10.1093/jac/dkf190

Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., Chikindas, M. L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology* 71: 1-20.

De Vuyst, L., Vandamme, E. J. 1994. Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis subsp. lactis*: properties, biosynthesis, fermentation and applications. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria*, 151-221: Springer.

Dischinger, J., Chipalu, S. B., Bierbaum, G. (2014). Lantibiotics: Promising candidates for future applications in health care. *International Journal of Medical Microbiology* 304: 51-62. doi: 10.1016/j.ijmm.2013.09.003

- Feeney, R. E., Yamasaki, R. B., Geoghegan, K. F. (1982). Chemical Modification of Proteins - an Overview. *Advances in Chemistry Series*: 3-55.
- Field, D., Begley, M., O'Connor, P. M., Daly, K. M., Hugenholtz, F., Cotter, P. D., Hill, C., Ross, R. P. (2012). Bioengineered Nisin A Derivatives with Enhanced Activity against Both Gram Positive and Gram Negative Pathogens. *Plos One* 7. doi: ARTN e4688410.1371/journal.pone.0046884
- Field, D., Connor, P. M. O., Cotter, P. D., Hill, C., Ross, R. P. (2008). The generation of nisin variants with enhanced activity against specific Gram-positive pathogens. *Molecular Microbiology* 69: 218-230.
- Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R. L., Ben Omar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology* 120: 51-70.
- Gross, E., Morell, J. L. (1971). Structure of nisin. *Journal of the American Chemical Society* 93: 4634-4635.
- Guiotto, A., Pozzobon, M., Canevari, M., Manganelli, R., Scarin, Marino, V., Francesco M. (2003). PEGylation of the antimicrobial peptide nisin A: problems and perspectives. *Il Farmaco* 58: 45-50.
- Hansen, J. N. (1994). Nisin as a Model Food Preservative. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 34: 69-93.
- Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of Bacteriocins Produced by Lactic-Acid Bacteria. *Fems Microbiology Reviews* 12: 39-86.
- Koponen, O., Tolonen, M., Qiao, M. Q., Wahlstrom, G., Helin, J., Saris, P. E. J. (2002). NisB is required for the dehydration and NisC for the lanthionine formation in the post-translational modification of nisin. *Microbiology-Sgm* 148: 3561-3568.
- Kuipers, O. P., Rollema, H. S., Beerthuyzen, M. M., Siezen, R. J., deVos, W. M. (1995). Protein engineering and biosynthesis of nisin and regulation of transcription of the structural nisA gene. *International Dairy Journal* 5: 785-795.
- Kuipers, O. P., Rollema, H. S., Yap, W.M., Boot, H. J, Siezen, R. J, de Vos, W. M. (1992). Engineering dehydrated amino acid residues in the antimicrobial peptide nisin. *Journal of Biological Chemistry* 267: 24340-24346.
- Liu, W., Hansen, J. N. (1990). Some Chemical and Physical-Properties of Nisin, a Small-Protein Antibiotic Produced by *Lactococcus-Lactis*. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 2551-2558.
- Lopes, N. Almeida, P., Cristian, M. B., Brandelli, A.. (2017). Pectin and polygalacturonic acid-coated liposomes as novel delivery system for nisin: Preparation, characterization and release behavior. *Food Hydrocolloids* 70: 1-7.
- Maher, S., Vilck, G., Kelleher, F., Lajoie, G., McClean, S. (2009). Chemical Modification of the Carboxyl Terminal of Nisin A with Biotin does not Abolish Antimicrobial Activity Against the Indicator Organism, *Kocuria rhizophila*. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 15: 219-226. doi: 10.1007/s10989-009-9179-y
- Marth, E. H. (1998). Extended shelf life refrigerated foods: Microbiological quality and safety. *Food Technology* 52: 57-62.
- Muppalla, S. R., Sonavale, R., Chawla, S. P., Sharma, A. (2012). Functional properties of nisin-carbohydrate conjugates formed by radiation induced Maillard reaction. *Radiation Physics and Chemistry* 81: 1917-1922. doi: 10.1016/j.radphyschem.2012.07.009
- Parada, J. L., Caron, C. R., Medeiros, A. B. P., Soccol, C. R. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: Purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 50: 521-542. doi: Doi 10.1590/S1516-89132007000300018
- Plat, A., Kuipers, A., de Lange, J. G., Moll, G. N., Rink, R. (2011). Activity and Export of Engineered Nisin-(1-22) Analogs. *Polymers* 3: 1282-1296.
- Rollema, H. S., Kuipers, O. P., Both, O., Devos, W. M., Siezen, R. J. (1995). Improvement of Solubility and Stability of the Antimicrobial Peptide Nisin by Protein Engineering. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 2873-2878.
- Slootweg, J. C., van der Wal, S., van Ufford, H. C. Q., Breukink, E., Liskamp, R. M. J., Rijkers, D. T. S. (2013). Synthesis, Antimicrobial Activity, and Membrane Permeabilizing Properties of C-Terminally Modified Nisin Conjugates Accessed by CuAAC. *Bioconjugate Chemistry* 24: 2058-2066. doi: 10.1021/bc400401k.
- Spicer, C. D., Davis, B. G. (2014). Selective chemical protein modification. *Nature Communications* 5.
- van Kraaij, C., Breukink, E., Rollema, H. S, Bongers, R. S, Kosters, H. A, de Kruijff, B., Kuipers, O. P. (2000). Engineering a disulfide bond and free thiols in the lantibiotic nisin Z. *European Journal of Biochemistry* 267: 901-909.
- Wilson-Stanford, S., Kalli, A., Hakansson, K., Kastrantas, J., Orugunty, R. S., Smith, L. (2009). Oxidation of Lanthionines Renders the Lantibiotic Nisin Inactive. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 1381-1387. doi: 10.1128/Aem.01864-08.
- Yang, S-C., Lin, C-H., Sung, C. T, Fang, J-Y. (2014). Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers in Microbiology* 5: 241.
- Yuan, J., Zhang, Z. Z., Chen, X. Z., Yang, W., Huan, L. D. (2004). Site-directed mutagenesis of the hinge region of nisinZ and properties of nisinZ mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64: 806-815. doi: 10.1007/s00253-004-1599-1.
- Zacharof, M.P., Lovitt R.W. (2012). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria: a review article. *APCBEE Procedia*, vol. 2, pp. 50–56.
- Zhou, L., Shao, J., Li, Q., van Heel, A. J, de Vries, M. P, Broos, J., Kuipers, O. P. (2016). Incorporation of tryptophan analogues into the lantibiotic nisin. *Amino Acids* 48: 1309-1318.