

هُوَ الْحَكِيمُ

پنجمین همایش بین المللی و سیزدهمین همایش ملی

بیوتکنولوژی ایران

5th Interational &
13th National Biotechnology Congress

۱۶-۱۸ مهر ماه ۱۴۰۲ - مرکز همایش های بین المللی دانشگاه شهید بهشتی



biotech13-03850187

زیست‌فناوری میکروبی، غذایی، صنعتی، محیط‌زیست و نانوتکنولوژی.

پیش‌بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی واریانتهای نیسین به کمک ابزار ProtParam Prediction of physicochemical properties of nisin variants using ProtParam tool

نگین غزنفری^۱، فریده طباطبایی یزدی^۱، سید علی مرتضوی^۱، علی جوادمنش^۲

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

negin.ghazanfari67@gmail.com

چکیده

نیسین یک پلی‌پپتید کاتیونی پنج حلقه‌ای حاوی ۳۴ اسید آمینه و وزن مولکولی ۳/۵ کیلو دالتون است. تنها باکتریوسینی است که مجوز مصرف به عنوان افزودنی غذایی را دارد و در حال حاضر، در بیش از ۵۰ کشور استفاده می‌شود و تأثیر قابل توجهی در صنایع غذایی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای انواع مختلف غذاها داشته است. ۱۱ واریانت طبیعی دیگر آن نیز شناسایی شده است. در این مطالعه خصوصیات وزن مولکولی، بار کلی، pH ایزوالکتریک نظری، شاخص آلیفاتیک و میانگین کل هیدروپاتیک تمامی واریانتهای نیسین با کمک ابزار ProtParam پیش‌بینی شد.

در این مطالعه اولین بار خصوصیات فیزیکوشیمیایی واریانتهای نیسین با ابزار ProtParam پیش‌بینی و مشخص شد اختلاف زیادی (به جز اختلافات جزئی در چند واریانت) از نظر وزن مولکولی، بار کلی و pH ایزوالکتریک نظری بین واریانتهای نیسین مشاهده نشد. هر چند اختلاف زیادی در پارامتر شاخص آلیفاتیک مشاهده شد. همچنین تمامی واریانتهای نیسین‌های O₄ و J نیز آبدوست (قطبی) بودند.

کلمات کلیدی: باکتریوسین، نیسین، خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ProtParam

مقدمه

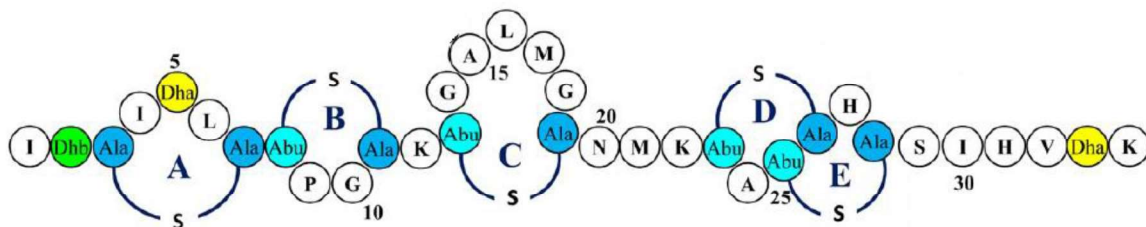
نیسین یک پلی‌پپتید کاتیونی پنج حلقه‌ای با یک باقیمانده لانتیونین (حلقه A) و چهار باقیمانده بتا-متیل لانتیونین (حلقه‌های E, D, C, B)، حاوی دو اسید آمینه غیر استاندارد Dha: دهیدروآلانین، Dhb: دهیدروبتیرین، دارای ۳۴ اسید آمینه و وزن مولکولی ۳/۵ کیلو دالتون است (شکل ۱)، که توسط سویه‌هایی از باکتری گرم مثبت *Lactococcus lactis* به صورت ریبوزومی سنتز

می‌شود نیسین اولین بار در سال ۱۹۲۸ توسط Whittier و Rogers کشف شد. در سال ۱۹۸۸ از سازمان غذا و دارو ایالات متحده (FDA) به عنوان ایمن (GRAS) شناخته شده است. تنها باکتریوسین است که مجوز مصرف به عنوان افزودنی غذایی را دارد. در بیش از ۵۰ کشور استفاده می‌شود و تأثیر قابل توجهی در صنایع غذایی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی داشته است. نیسین دارای اثر ضد میکروبی بر روی طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت است، اما تأثیر کمی روی باکتری‌های گرم منفی، قارچ‌ها و ویروس‌ها نشان می‌دهد (Garcia-Gutierrez et al., 2020; de Arauz et al., 2009).

باکتریوسین‌های کلاس I که به لانتی‌بیوتیک معروف هستند، گروهی از پپتیدهای ضد میکروبی حاوی اسیدهای آمینه چند حلقه‌ای، لانتیونین و بتا-متیل لانتیونین هستند، که در برابر حرارت پایدار بوده و وزن مولکولی بین ۴-۲ کیلو دالتون دارند (Zacharof & Lovitt, 2012).

نیسین A شکل اصلی جدا شده از نیسین است. ۱۱ واریانت طبیعی دیگر آن نیز شناسایی شده است. نیسین‌های Z, F و Q توسط *Lactococcus lactis*، در حالی که نیسین‌های U, U2, H و P توسط سویه‌های *Streptococcus sp*، نیسین O توسط *Blautia obeum*، نیسین P توسط *Streptococcus agalactiae*، نیسین J توسط *Staphylococcus capitis* و نیسین G که توسط *Streptococcus salivarius* تولید می‌شوند. نیسین Z اولین نوع طبیعی نیسین A در نظر گرفته می‌شود، و تنها در یک موقعیت ۲۷، آسپارژین (در نیسین Z) جایگزین هیستیدین (در نیسین A) با هم تفاوت دارند. این جایگزینی در مقایسه با نیسین A تأثیر بسیار کمی بر فعالیت ضد میکروبی، پایداری حرارتی و pH دارد، اما حلالیت مولکول را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری که نیسین Z در pH قلیایی و خنثی محلول‌تر است (Garcia-Gutierrez et al., 2020; Lawrence et al., 2022).

هدف از انجام این مطالعه، با توجه به ویژگی‌های ذکر شده برای نیسین به عنوان تنها باکتریوسین ایمن و مورد استفاده در صنایع غذایی، پیش‌بینی و مقایسه چند خصوصیت واریانت‌های مختلف نیسین بود.



شکل ۱. ساختار نیسین

مواد و روش

پیش‌بینی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پپتید

¹ Food and Drug Administration

² Generally Recognized as Safe

ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam>) ایزاری است که امکان محاسبه پارامترهای فیزیکی و شیمیایی مختلف را برای یک پروتئین معین ذخیره شده در Swiss-Prot یا برای یک توالی پروتئینی وارد شده توسط کاربر می‌دهد. پارامترهای محاسبه شده شامل وزن مولکولی، pI (pH ایزوالکتریک) نظری، شاخص آلیفاتیک، بار کلی و میانگین کل هیدروپاتیک (GRAVY: grand average of hydrophobicity) پیش‌بینی می‌کند (Bhandari et al., 2020).

نتیجه‌گیری و بحث

مقادیر مثبت پارامتر GRAVY نشان دهنده آبدوست بودن و مقادیر منفی نشان دهنده آبگریز بودن پپتید است، که بر اساس نتایج بدست آمده تمام واریانتهای نیسین به جز نیسین‌های O₄ و J آبدوست هستند (جدول ۱). تمامی واریانتهای بار کلی +3 داشتند و نکته جالب توجه این بود که نیسین‌های O₁₋₃، H و J دارای بار کلی +4 بودند. از نظر وزن مولکولی سنگین‌ترین واریانت نیسین J و نیسین P سبک‌ترین واریانت مشخص شد. بین واریانتهای نیسین از نظر pH ایزوالکتریک نظری که در اینجا ارائه شده است تفاوت جزئی مشاهده شد که مربوط به نیسین‌های O₁₋₃، H و J بود. با بررسی ویژگی‌های مختلف نیسین Z بیشترین شباهت را بین واریانتهای مختلف با نیسین A داشت که با توجه به وجود تنها یک اختلاف اسید آمینه در موقعیت ۲۷ این نیسین با نیسین A، این نتایج قابل انتظار بود.

جدول ۱. وزن مولکولی، بار کلی، pI (pH ایزوالکتریک نظری)، شاخص آلیفاتیک و میانگین کل هیدروپاتیک-ProtParam

Variants of Nisin	pI	MW	Charge	Aliphatic index	GRAVY
nisin A	8.78	3498.20	+3	71.76	0.415
nisin Z	8.78	3475.16	+3	71.76	0.406
nisin Q	8.78	3471.16	+3	85.88	0.524
nisin F	8.78	3461.14	+3	68.82	0.397
nisin U	8.78	3173.85	+3	66.13	0.448
nisin U2	8.78	3159.82	+3	62.90	0.439
nisin P	8.78	3133.78	+3	66.13	0.571
nisin H	9.02	3617.32	+4	48.82	0.185
nisin O ₁₋₃	9.02	3373.06	+4	53.33	0.070
nisin O ₄	8.77	3487.10	+3	48.75	-0.219
nisin J	9.05	3622.23	+4	50.29	-0.051
nisin G	8.76	3548.28	+3	91.76	0.662

Prediction of physicochemical properties of nisin variants using ProtParam tool

Negin Ghazanfari¹, Farideh Tabatabaei Yazdi¹, Seyed Ali Mortazavi¹, Ali Javadmanesh²

1- Department of Food Science and Industry, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

2- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

negin.ghazanfari67@gmail.com

Abstract

Nisin is a five-ring cationic polypeptide containing 34 amino acids and a molecular weight of 3.5 kDa. It is the only bacteriocin licensed for use as a food additive and is currently licensed in more than 50 countries and has made a significant impact in the food industry as a natural preservative for a variety of foods. 11 other natural variants have also been identified. In this study, the characteristics of molecular weight, total charge, theoretical isoelectric pH, aliphatic index and total hydropathic average of all nisin variants were predicted with the help of ProtParam tool

Keywords: Bacteriocin, nisin, physicochemical properties, ProtParam

References

Bhandari, B. K., Gardner, P. P., & Lim, C. S. (2020). Solubility-Weighted Index: fast and accurate prediction of protein solubility. *Bioinformatics*, 36(18), 4691-4698.

de Arauz, L. J., Jozala, A. F., Mazzola, P. G., & Penna, T. C. V. (2009). Nisin biotechnological production and application: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(3-4), 146-154 .

Garcia-Gutierrez, E., O'Connor, P. M., Saalbach, G., Walsh, C. J., Hegarty, J. W., Guinane, C. M., Mayer, M. J., Narbad, A., & Cotter, P. D. (2020). First evidence of production of the lantibiotic nisin P. *Scientific reports*, 10(1), 3738 .

Lawrence, G. W., Garcia-Gutierrez, E., Walsh, C. J., O'Connor, P. M., Begley, M., Cotter, P. D., & Guinane, C. M. (2022). Nisin G is a novel nisin variant produced by a gut-derived *Streptococcus salivarius*. *BioRxiv*, 2022.2002. 2015.480493 .

Zacharof, M.-P., & Lovitt, R. (2012). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. *Apcbee Procedia*, 2, 50-56 .