www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 67, No.4, P: 1218-1231
Sep-Nov2024

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۷، شماره ۴
مهر-آبان ۱۴۰۳ صفحه ۱۲۳۱-۱۲۱۸

مقاله مروری

کاربرد پروتئومیکس در باکتری‌شناسی پزشکی با تأکید بر آنالیز پروتئومی پست‌بیوتیک‌ها

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۵- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۰

مهدی اصغری عظمی [1*]
مسعود لاهوتی [2]
نیلوفر فلاحی آلیله [1]
سینا مهدوی [3]
مسعود اصغری عظمی [4]
جواد نژادی [3]
امین عباسی [5]
محمد اصغرزاده [6]

[1] مرکز تحقیقات کاربردی علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[2] گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
[3] گروه میکروب شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[4] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
[5] گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید
[6] مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

Email: asghariozma@tbzmed.ac.ir

خلاصه

مقدمه: ساختار باکتری‌ها متشکل از ماکرومولکول های مختلفی ازجمله پروتئین ها، پلی ساکاریدها، فسفولیپیدها و اسیدهای نوکلئیک می‌باشد که علاوه بر ایفای نقش در تشکیل ساختمان آن‌ها، نقش اساسی در حفظ حیات و بیماری‌زایی آن دارند. هدف از این مطالعه، بررسی کاربرد پروتئومیکس در تجزیه و تحلیل نمایه پروتئومی باکتریایی و پست بیوتیک های تولیدی می باشد.

روش کار: در این مطالعه مروری داده های مربوطه با جستجوی کلید واژه های «پروبیوتیک، پست بیوتیک، پروتئوم، پروتئومیکس، بیوفیلم، مقاومت آنتی بیوتیکی» در پایگاه های اطلاعاتی وب آو ساینس، پاب مد، مدلاین و اسکاپوس گردآوری شده است، تمامی مقالات مرتبط با مطالعات تجربی وارد مطالعه شده و مقالاتی که حاوی متن کامل نبودند از مطالعه خارج شدند.

نتایج: برای مطالعه ماکرومولکول های میکروبی علاوه بر روش های ژنومیکی، روش های پروتئومیکی نیز وجود دارند که اطلاعاتی در مورد پروتئین های ساختاری و عملکردی باکتری‌ها ارائه می‌دهند.در محدوده مطالعات پروتئومیکسی باکتریایی،علاوه بر باکتری‌های بیماری‌زا، باکتری‌های پروبیوتیکی نیز مطرح می با شند که به‌عنوان بخشی از ساختار این میکروارگانیسم‌ها و همچنین در اثر فعالیت متابولیکی آن‌ها، ترکیباتی موسوم به پست بیوتیک تولید می گردند که مسئول اثرات مفید آن‌ها بوده ودارای خواص مختلفی از جمله اثرات ضدمیکروبی،ضد التهابی و تعدیل کنندگی سیستم ایمنی می باشند.

نتیجه‌گیری: بهره گیری از پروتئومیکس کاربردی در زمینه تجزیه و تحلیل نمایه پروتئومی باکتری ها از جمله پروبیوتیک ها می تواند رویکردی نوین در جهت شناخت همه جانبه متابولیت های پست بیوتیک عنوان گردد که به مراتب زمینه ساز غنی سازی ماتریکس مواد غذایی جهت توسعه غذاهای فراسودمند برای اهداف سلامت بخشی می باشد.

کلمات کلیدی: باکتری‌شناسی، پست بیوتیک، پروبیوتیک، پروتئوم، پروتئومیکس

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

Doi: 10.22038/MJMS.2024.76651.4477

مقدمه

باکتری‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که در محیط‌های مطلوب خود، رشد و تکثیر پیدا کرده و میزبان‌های مختلفی ازجمله انسان، حیوان و گیاهان را آلوده می‌کنند. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند ماکرومولکول های متعددی مانند پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، فسفولیپیدها و اسیدهای نوکلئیک تولیدکنند که در شکل‌گیری ساختار، بقا در داخل میزبان و بیماری‌زایی آن‌ها ضروری است و این بیماری‌زا بودن، عفونت‌های باکتریایی را به یک مسئله مهم بهداشت و سلامت عمومی تبدیل کرده است (۱). روش‌های مختلفی ازجمله ژنومیکس و پروتئومیکس برای مطالعهٔ این ماکرومولکول ها استفاده می‌شود که اطلاعات جامعی در مورد میکروارگانیسم‌ها ارائه می‌دهد. روش‌های ژنومیکس، شناسایی و بیان ژن‌های مختلف سلول‌ها را بررسی می‌کند، درحالی‌که پروتئومیکس، پروتئین‌ها را موردبحث قرار می‌دهد که ماکرومولکول های فعال‌تری نسبت به اسیدنوکلئیک ها هستند (۲, ۳).

پروتئومیکس علم مطالعه جامع پروتئین‌های مختلف ساختاری و عملکردی یک سلول است که این ماکرومولکول‌ها را با روش‌های متعددی ازجمله طیف‌سنجی جرمی-کروماتوگرافی مایع (LC–MS)، الکتروفورز دوبعدی (2DE)، وسترن بلات (Western Blot)، ایمونوالکتروفورز و یا طیف‌سنجی جرمی تکنیک جذب و یونش لیزری با ماتریکس (MALDI-TOF MS)، موردمطالعه قرار می‌دهند که در مطالعهٔ پروتئین‌های باکتریایی اهداف مختلفی همچون مطالعهٔ ساختارهای سطحی باکتری، ترکیبات عملکردی داخلی و مکانیسم‌هایی با اعمال خاص ازجمله تشکیل بیوفیلم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی که در افزایش بیماری‌زایی باکتریایی مؤثر هستند، موردمطالعه و بررسی قرار می‌گیرند. این بررسی‌ها نشان می‌دهد که با مطالعهٔ پروتئین‌های باکتریایی می‌توان به دانش جامعی دست‌یافت که در تشخیص سریع، آسان و دقیق عفونت‌ها کمک‌کننده است و درمان آن‌ها را مؤثرتر می‌کند(۴, ۵). مطالعه مروری حاضر به بررسی جامع پروتئین‌های مختلف باکتریایی، اثرات آن‌ها بر توانایی باکتری‌ها در ایجاد بیماری در سلول‌های میزبان و بیماری‌زایی آن‌ها و همچنین مطالعه‌ی پست بیوتیک های پروتئینی آن‌ها برای ارائه بینش‌های جدید در مورد میکروارگانیسم‌ها برای مقابله مؤثرتر با آن‌ها می‌پردازد.

۲.آنالیز پروتئومیکی سیستم‌های ترشحی باکتری‌ها

باکتری‌ها از فرآیندهای مختلفی مانند ترشح پروتئین برای فرار از سیستم ایمنی میزبان و حفظ رشد خود استفاده می‌کنند. آن‌ها پروتئین‌ها را از سیتوپلاسم خود به‌وسیله‌ی سیستم‌های ترشحی مختلفی که دارند، به بدن میزبان یا محیط، ترشح می‌کنند. این پروتئین‌های ترشح‌شده نقش‌های مختلفی ازجمله اتصال به سلول میزبان، سمیت سلولی و اختلال در عملکرد سلول میزبان و درنهایت افزایش بقای باکتری در میزبان را دارند(۶). چندین سیستم ترشحی در باکتری‌ها با ساختار و عملکرد متفاوت وجود دارد که پروتئین‌های مختلفی را ترشح می‌کنند. سیستم‌های ترشح عمومی Sec و Tat، پرکاربردترین سیستم‌های ترشحی در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت هستند که پروتئین‌ها را به داخل سلول، پری‌پلاسم یا غشای داخلی ترشح می‌کنند و درنتیجه امکان ورود فاکتورهای بیماری‌زا به داخل سلول را فراهم می‌کنند و باعث ایجاد عفونت می‌شوند. مسیر Sec شامل کمپلکسی شامل پروتئین‌هایSecYEG است که پروتئین‌های تانخورده را انتقال می‌دهد، پروتئین SecA که فعالیت ATPase دارد و پروتئین SecB که فعالیت چاپرونی دارد و می‌تواند ازیک‌طرف به پروتئین پیش‌ساخته و از طرف دیگر به آنزیم پپتیداز پیام‌رسان در پری‌پلاسم متصل شود و درنهایت مواد را به بیرون منتقل کند که این سیستم ترشحی، هم در باکتری‌های گرم مثبت و هم در گرم منفی‌ها یافت می‌شود(۷). مسیر Tat شامل بخش‌های پروتئینی TatA، TatB و TatC است که برای جابجایی پروتئین‌هایی که تاخوردگی مناسب پیدا کرده‌اند کاربرد دارد و برای باکتری‌های بیماری‌زا و غیربیماریزا، باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ازجمله‌یرسینیا سودوتوبرکلوزیس و سودوموناس آئروجینوزا حیاتی است و باعث افزایش بیماری‌زایی آن‌ها می‌شود(۸).

باکتری‌ها از هفت نوع سیستم ترشحی برای انتقال ماکرومولکول-های مختلف به خارج سلول استفاده می‌کنند. سیستم ترشحی نوع یک(T1SS) هم در باکتری‌های گرم منفی و هم در باکتری‌های گرم مثبت وجود دارد و متشکل از سه بخش پروتئینی است که شامل حمل‌کننده کاست متصل به ATP (ABC)، پروتئین ادغامی غشا (MFP) و فاکتور غشای خارجی (OMF) می‌باشدکه مجموع این سه بخش تشکیل یک کانال را می‌دهد که از داخل این کانال پروتئین ترشحی از سلول باکتری خارج می‌شود. این سیستم ترشحی مولکول‌های مختلفی را جابجا می‌کند که شامل توکسین‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها است که ازجمله می‌توان به بعضی از توکسین هایی که می‌توانند در غشای سیتوپلاسمی میزبان ایجاد سوراخ کنند و یا آنزیم‌های لیپاز، پروتئاز و بعضی از پروتئین‌هایی که در سطح باکتری قرار دارند و اجازه پیدا می‌کنند که آهن موردنیاز را کسب کنند و به نام فریتین شناخته می‌شوند(۹).

سیستم ترشحی نوع دو (T2SS) شامل چهار پروتئین است که عبارت‌اند از پلتفرم غشای داخلی، سکرتین غشای خارجی، ATPase سیتوپلاسمیک و سودوپیلوس که در اکثر باکتری‌های گرم منفی وجود دارد و مولکول‌های تاخورده ازجمله فسفاتاز، لیپاز، پروتئاز و کربوهیدراتاز را ترشح می‌کند که در بیماری‌زایی باکتری‌ها مؤثرند. *سودوموناس آئروجینوزا* از سیستم ترشحی نوع ۲ برای ترشح اگزوتوکسین A خود استفاده می‌کند که با مختل کردن پروتئین‌سازی سلول‌های میزبان، اثرات منفی خود را اعمال می‌کنند(۱۰).

سیستم ترشحی نوع سه (T3SS) در بسیاری از باکتری‌های گرم منفی یافت می‌شود که با عنوان سوزنی injectisomes و needle-like نیز شناخته می‌شوند. این سیستم از سه بخش جسم قاعده‌ای (Basal Body)، سوزن (Needle) و ترانسلوکان (Translocon) تشکیل‌شده است که باعث ورود پروتئین‌های باکتریایی به سلول میزبان می‌شود و درنهایت بر عملکردهای مختلف آن تأثیر می‌گذارد. این سیستم ، باعث ترشح مولکول‌های پروتئینی با نام افکتور پروتئین (Effector Protein) می‌گردند که آن‌ها را مستقیما به داخل سلول هدف تزریق می‌کنند. این سیستم ترشحی برای اولین بار در باکتری *یرسینا پستیس* عامل طاعون شناسایی شد. این سیستم نیازی به حضور پپتیدهای سیگنال ندارد و ساختمانش مثل یک سرنگ عمل می‌کند به‌گونه‌ای که می‌تواند پروتئین ترشحی را مستقیما از عرض غشا به سیتوپلاسم باکتری و سلول میزبان عبور بدهد و محتویات خود را مستقیما وارد سلول میزبان نماید(۱۱).

سیستم ترشحی نوع چهار(T4SS) نیز هم در باکتری‌های گرم منفی و هم در باکتری‌های گرم مثبت وجود دارد و می‌تواند هم مولکول‌های DNA و هم پروتئین را به سایر پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها انتقال دهد. این سیستم به دلیل انتقال DNA می‌تواند در کانجوگاسیون یا هم یوغی شرکت کند که باعث انتقال ژنوم بین باکتری‌ها می‌شود. این سیستم ترشحی برای اولین بار در باکتری *آگروباکتریوم تومفاسینس* شناسایی شد که به‌واسطه‌ی این سیستم می‌تواند DNA پلاسمیدی را وارد یک میزبان یوکاریوتی نماید و از چندین پروتئین ازجمله VirB1، VirB2 و VirD4 تشکیل گردیده است(۱۲).

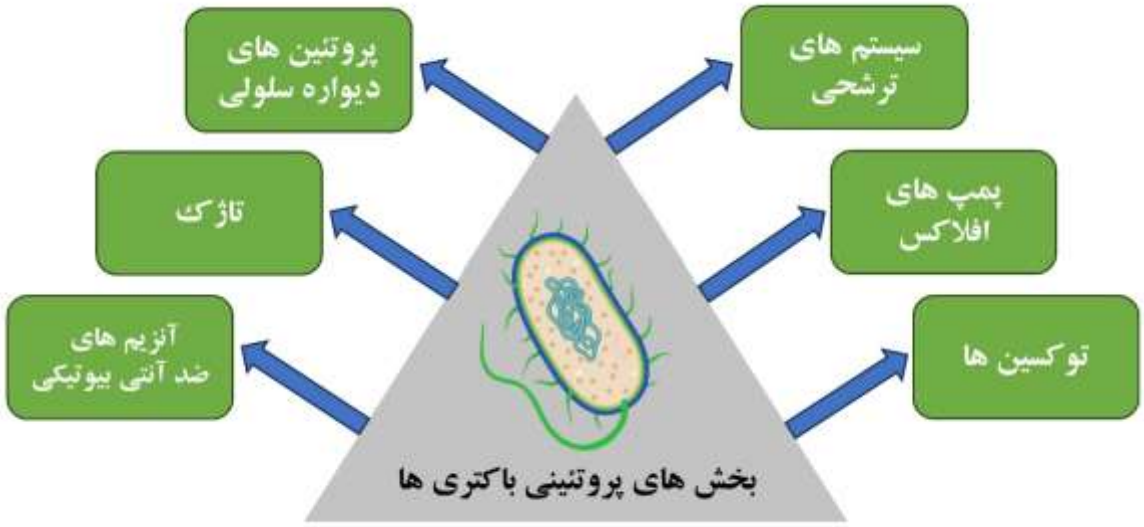
برخلاف دیگر سیستم‌های ترشحی، سیستم ترشحی نوع ۵ (T5SS) به‌عنوان یک انتقال‌دهنده‌ی خودکار (Autotransporter) در باکتری‌های گرم منفی عمل می‌کند و معمولا توکسین‌های تانخورده‌ی باکتریایی را منتقل می‌کند. این سیستم ترشحی به چندین گروه تقسیم‌شده است که مهم‌ترین گروه‌ها Va (Classical or Monomeric)، Vb (Two-partner Secretory System or TPSS) و TAA (Trimeric Autotransporter Adhesins) است و هر یک از این سیستم‌ها از پروتئین‌های مختلفی در باکتری‌های مختلف تشکیل‌شده‌اند. برای مثال در *اشریشیا کلی* اصلی‌ترین پروتئین‌ها در تشکیل Va، Bam A-E است که به نقل‌وانتقال مولکول‌ها و افزایش بیماری‌زایی باکتری کمک می‌کند(۱۳).

ضروری‌ترین پروتئین در ساختار TPSS، TpsA و TpsB است و پروتئین Bam بخشی ضروری برای تشکیل TAAs است. پروتئین‌های چاپرون شامل SurA، SkpA، FkpA و DegP است که برای نگهداری پروتئین‌های تانخورده در Va به اتوترنسپورترها وصل می‌شود تا این سیستم بهترین عملکرد خود را داشته باشد. یکی از کاربردهای سیستم ترشحی نوع پنج، در گروه Va ترشح IgA Protease یا ایمنوگلوبولین A پروتئاز در

نایسریا منتژیتیدیس است که آنتی‌بادی سلول هدف را مختل و سیستم ایمنی را تضعیف می‌کند و همچنین در شروع بیماری‌زایی در باکتری بارتونلا، TAAs در اتصال به سلول هدف و ایجاد عفونت در سلول میزبان کمک‌کننده است(۱۴).

سیستم ترشحی نوع شش(T6SS) اولین بار در دو باکتری *ویبریو کلرا و سودوموناس آئروجینوزا* شناسایی شد. این سیستم از دو بخش غلاف و لوله و اجزای پروتئینی مختلف تشکیل‌شده است. باکتری‌ها از این سیستم ترشحی نه‌تنها برای ایجاد بیماری‌زایی، بلکه برای مقابله با باکتری‌های بزرگ‌تر که ممکن است به این باکتری‌ها حمله کنند، استفاده می‌کنند. بیان این سیستم ترشحی و پروتئین‌های عامل آن در پاسخ به استرس‌ها و محرک‌های محیطی افزایش می‌یابد که باعث بقای باکتری در شرایط نامساعد می‌شود (۱۵).

بعضی باکتری‌ها ازجمله *مایکوباکتری‌ها* دیواره‌ی سفت‌وسختی اطراف خود دارند که منجر به مقاومت بالا در برابر محرک‌های محیطی و آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود و به دلیل نفوذپذیری کم دیواره، انتقال ماکرومولکول‌های ترشحی را برای باکتری دشوار می‌کند و به همین دلیل این باکتری‌ها از یک ساختار خاص برای انتقال مولکول‌ها به نام سیستم ترشحی نوع ۷ (T7SS) استفاده می‌کنند. این سیستم ترشحی برای اولین بار در مایکوباکتریاها شناسایی شد که ESX یا ESAT Secretion System نام-گذاری گردید که از پنج پروتئین EccB، EccC، EccD، EccD و MycP تشکیل‌شده است. سیستم ترشحی نوع هفت در دیگر باکتری‌ها همچون کورینه باکتریوم ها نیز یافت می‌شود. بیان این سیستم ترشحی در باکتری‌ها اختصاصی است و این ویژگی باعث شده است که این سیستم ترشحی به‌عنوان اهداف دارویی برای تهیه‌ی واکسن و داروها مورداستفاده قرار گیرد (شکل ۱)(۱۶).



شکل ۱. بخش‌های پروتئینی ساختاری و عملکردی باکتری‌ها

۳.آنالیز پروتئومیکی دیواره باکتری‌ها

باکتری‌ها برای اتصال به سلول میزبان به فاکتورهای ویرولانس متعددی نیاز دارند که ازجمله آن‌ها می‌توان به پروتئین‌های لایهٔ سطحی، پوشش پروتئینی سلول و تاژک اشاره کرد که با اتصال باعث ایجاد بیماری در سلول میزبان می‌گردند. لایهٔ سطحی یک ساختار دو بعدی است که خارج از دیواره‌ی سلول باکتری قرار دارد و سطح خارجی باکتری را می‌پوشاند و باکتری از این طریق

با محیط بیرون ارتباط دارد. این ساختار از پروتئین یا گلیکوپروتئین تشکیل‌شده است و چندین نقش دارد که به‌عنوان‌مثال باعث اتصال باکتری به سلول میزبان، تغییرات آنتی-ژنیکی و محافظت از باکتری در مقابل آسیب‌های محیطی و نهایتا افزایش بیماری‌زایی و قابلیت رشد و بقاء را به باکتری می‌دهد. آنالیز پروتئین‌های لایهٔ سطحی نشان داده است که پروتئین لایهٔ سطحی از دو پروتئین با وزن‌های ۴۵ کیلو دالتون به نام پروتئین لایهٔ سطحی با وزن مولکولی بالا (HMW-SLP) و پروتئین ۳۶ کیلو دالتون به نام پروتئین لایهٔ سطحی با وزن مولکولی پایین (LMW-SLP) است که هر دو مورد این پروتئین‌ها از یک ژن به نام *SlpA* منشأ می‌گیرند که وظایف مختلفی در بیماری‌زایی باکتری دارد که باعث سو جذب مواد غذایی در روده می‌گردند(۱۷).

تاژک ساختار سطحی پروتئینی دیگری است که مشتق از چندین پروتئین مختلف است که شامل پروتئین فلاژلین (FlaA,FlaB)، پروتئین کلاهک یا Cap (FliD)، پروتئین قلاب یا Hook (FlgE) و پروتئین جسم قاعده‌ای یا Basal Body (FlgG) که باعث می‌شود باکتری توانایی حرکت در میان سلول‌های میزبان را داشته و باعث اتصال و کلونیزاسیون و عفونت‌های مزمن در بدن میزبان می‌گردد و در بالین آنتی‌بادی‌های ضد FlaA می‌تواند به‌عنوان عواملی در درمان عفونت‌های باکتریایی مورداستفاده قرار گیرند(۱۸).

باکتری‌ها توسط یک ساختاری به‌عنوان پوشش سلولی احاطه‌شده‌اند که به‌طور مؤثر شکل باکتری را حفظ و از فشار اسمزی و سایر استرس‌های محیطی باکتری را محافظت می‌کند. این ساختار پیچیده شامل کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌های مختلفی است که در داخل و سطح باکتری قرار دارند و بسیاری از فعالیت‌های باکتریایی را کنترل می‌کند. پروتئین‌های تشکیل‌دهنده این ساختار، عملکردهای مختلفی ازجمله مشارکت در ساخت پوشش سلولی، رونویسی، ترجمه، انتقال، متابولیسم، تولید انرژی، پیام‌رسانی و دفاع در برابر سیستم ایمنی انسان را انجام می‌دهد و باعث افزایش بقای باکتری و عملکرد مخرب آن بر بدن میزبان می‌گردد(۱۹).

برخی باکتری‌ها در شرایط غیرقابل‌تحمل مثل قرار گرفتن در محیط‌هایی که کمبود ازت، فسفات و کربن دارند، ساختاری محکم و مقاوم به نام اسپور را تحت فرآیندی به نام اسپورولاسیون (Sporulation) برای محافظت از خود تشکیل می‌دهند که به آن‌ها کمک می‌کند پس از جوانه زدن (Germination) دوباره فعال شوند و فعالیت بیماری‌زایی خود را از سر گیرند. اسپور از قسمت‌های مختلفی تشکیل‌شده است که پوشش آن متشکل از دولایه بوده و حاوی انواع پروتئین‌ها ازجمله CotC، CotE، SafA و Spo4D است که برای عملکرد پوشش در محافظت از باکتری‌ها در برابر سیستم ایمنی میزبان حیاتی است و انتقال مواد ضروری که به باکتری‌ها برای زنده ماندن در میزبان کمک می‌کند را میسر می‌سازند(۲۰).

باکتری‌های گرم منفی یک غشای بیرونی در اطراف خود دارند که حاوی پروتئین‌های غشای خارجی است (OMPs) که در عملکردهای حیاطی باکتری‌ها مانند حفظ و ارسال پیام نقش دارند و همچنین می‌توانند یک عامل بیماری‌زا در اتصال باکتری به سلول‌های میزبان عمل کنند. این باکتری از طریق پروتئین‌های غشای خارجی همچنین می‌توانند از سیستم ایمنی میزبان فرار کنند و با جذب مواد مغذی ضروری از طریق این غشا، درنتیجه باعث افزایش بقای باکتری در سلول‌های هدف شود. باکتری‌های گرم منفی همچنین یک ساختار پروتئین اختصاصی به نام وزیکول‌های غشای خارجی (OMVs) نیز دارند که از پروتئین‌های غشای خارجی مشتق شده‌اند و وظایف متعددی ازجمله اتصال به سلول میزبان، تضعیف سیستم ایمنی میزبان، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، پاسخ به استرس‌ها، فعالیت پروتئولیتیکی، جذب آهن و درنهایت افزایش بقای باکتری در سلول میزبان می‌شود(۲۱).

٤. آنالیز پروتئومیکی تشکیل بیوفیلم توسط باکتری‌ها

جمعیتی از سلول‌های باکتریایی که در تماس نزدیک به هم به سطحی متصل می‌شوند و توسط ماتریکس اگزوپلی‌ساکاریدی احاطه می‌گردند، زیست لایه یا بیوفیلم نامیده شده که از باکتری‌ها در برابر شرایط نامساعد محیطی از جمله اثرات آنتی بیوتیک ها با جلوگیری از نفوذ موثر آن ها و همچنین در برابر سیستم دفاعی میزبان، محافظت می‌کند که درنهایت باعث ایجاد عفونت‌های

مزمن در بدن میزبان می‌شوند. باکتری‌ها بسیاری از ژن‌های تولید بیوفیلم را در مقایسه باحالت پلانکتونیک یا شناور فعال می‌کنند و پروتئین‌های عملکردی حیاتی تولید می‌کنند که درنهایت باعث می‌شود باکتری‌ها به سطوح زنده یا غیرزنده چسبیده و جوامع سلولی خود را تشکیل دهند. از مهم‌ترین پروتئین‌های دخیل در سنتز بیوفیلم RpoSs ها هستند که یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی باکتری اشریشیا کلی در پاسخ به تنش‌های محیطی است و حذف آن‌ها باعث بی‌ثباتی در بیوفیلم می‌شود(۲۲). یکی از ساختارهای مهم دیگر تاژک است که بیان پروتئین‌های سازنده‌ی آن و همچنین پروتئین‌های کموتاکتیک مانند CheA در طول تشکیل بیوفیلم افزایش می‌یابد. باکتری‌ها در بیوفیلم، پروتئین‌های مسئول تولید انرژی مانند سوکسینات و تیوکیناز را افزایش می‌دهد که نشان‌دهنده‌ی وجود رشد باکتری‌ها در داخل بیوفیلم ها است(۲۳).

۵. آنالیز پروتئومیکی بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها

آنتی‌بیوتیک‌ها کاربردهای زیادی در درمان عفونت‌های باکتریایی دارند. ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها باعث به وجود آمدن چالش‌هایی برای مقابله و کنترل این مقاومت‌ها شد که این مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها، منجر به افزایش بیماری‌زایی باکتریایی و تهدید سلامت و بهداشت جوامع گردیده است. باکتری‌ها از روش‌های مختلفی برای کسب مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی استفاده می‌کنند که ازجمله‌ی آن‌ها می‌توان به سنتز پمپ افلاکس برای بیرون انداختن آنتی‌بیوتیک‌ها از داخل باکتری، کاهش نفوذپذیری آنتی‌بیوتیک از غشای باکتری، کسب ژن‌های مقاومت و استفاده از متابولیت‌های خاص و پروتئین‌های مختلف و بی‌اثر کردن داروهای ضد باکتریایی اشاره کرد(۲۴).

برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها سنتز دیواره‌ی سلولی را با مهار آنزیم‌های دخیل در ساخت پپتیدوگلیکان برای اعمال اثر آن‌ها متوقف می‌کنند که بتالاکتام‌ها و گلیکوپپتیدها اعضایی از این گروه آنتی-بیوتیکی هستند که از سنتز دیواره‌ی سلولی ممانعت می‌کنند(۲۵). باکتری‌ها از روش‌های مختلفی برای مقابله با بتا لاکتام‌ها استفاده می‌کنند ازجمله استفاده از آنزیم بتا لاکتاماز، افزایش سنتز پمپ-های افلاکس که آنتی‌بیوتیک را از باکتری خارج می‌کند و تولید پروتئین‌های اتصال شونده به پنی‌سیلین (PBPs) که به آنتی-بیوتیک‌ها متصل می‌شوند و میل ترکیبی آن‌ها را کاهش می‌دهند که ازجمله‌ی آن‌ها می‌توان به ناکارآمدی این آنتی‌بیوتیک‌ها را در مقابل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) اشاره کرد (۲۶).

برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها با سنتز پروتئین در باکتری‌ها تداخل ایجاد می‌کنند؛ برای مثال تتراسایکلین با جلوگیری از اتصال tRNA به ریبوزوم باعث اختلال عملکرد باکتری می‌شود و البته با تولید پروتئین‌هایی مانند پروتئین‌های محافظت‌کننده ریبوزومی(RPPs) و افزایش بیان پمپ‌های افلاکس با این آنتی-بیوتیک‌ها مقابله می‌کنند. به‌عنوان‌مثال *اشریشیا کلی* مقاوم به تتراسایکلین با افزایش بیان پروتئین‌های OmpC, FimD, Tsx, OmpW وکاهش بیان پروتئینLamB باعث مقاومت آنتی-بیوتیکی و افزایش زنده ماندن باکتری در سلول آلوده‌شده می‌گردد(۲۷).

مهار سنتز DNA یکی دیگر از مکانیسم‌های آنتی‌بیوتیک‌ها علیه باکتری‌ها است؛ برای مثال در *اشریشیا کلی* مقاوم به نالیدیکسیک اسید با افزایش تولید پروتئین‌های OmpC, OmpT, OmpW, TolC و کاهش خروج پروتئین FadL باعث مقاومت باکتری به این آنتی‌بیوتیک می‌گردد. در سالمونلا تیفی موریوم، افزایش بیان پمپ افلاکس AcAB/TolC باعث مقاومت باکتری به فلوروکینولون ها و ایجاد عفونت مزمن و پایدار می‌شود (۲۸).

٦. آنالیز پروتئومیکی توکسین های باکتریایی

باکتری‌ها برای حفظ زندگی خود ترکیبات مختلفی ازجمله مواد سمی به نام توکسین تولید می‌کنند. این مواد، ترکیبات آب‌دوست سمی، ایمنی‌زا و خطرناکی هستند که عمدتا پروتئینی بوده و از طریق مکانیسم‌های مختلف روی سلول‌ها تاثیر می‌گذارند که ابتدا با اتصال به گیرنده‌ی غشایی وارد سلول هدف می‌شوند و سلول را سوراخ کرده و در نهایت آن را از بین می‌برند (۲۹).

سموم یا توکسین‌ها بسته به محل اثر خود، به انواع مختلفی تقسیم می‌شوند؛ ازجمله انتروتوکسین‌ها که روی دستگاه گوارشی تأثیر می‌گذارند ازجمله انتروتوکسین B در *استافیلوکوکوس اورئوس*، نوروتوکسین‌ها که بر سیستم عصبی تاثیر دارند و ازجمله نوروتوکسین *کلستریدیوم بوتولینوم* را می‌توان نام برد و لکوسیدین‌ها در *استافیلوکوکوس اورئوس* که بر لکوسیت‌ها تأثیر می‌گذارند(۳۰). سایتوتوکسین که بر سلول‌های میزبان اثر گذاشته و در باکتری‌هایی همچون *هلیکوباکتر پیلوری* وجود دارد و همولیزین که گلبول‌های قرمز خون را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در باکتری‌هایی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، انواع مختلفی از آن ازجمله آلفا، بتا و گاما همولیزین ها وجود دارند که باعث آسیب به سلول میزبان و افزایش حیات باکتری در سلول هدف و افزایش بیماری‌زایی آن می‌شود (۳۱).

اکثر توکسین ها پروتئینی بوده و از دو بخش فعال آنزیمی و اتصالی تشکیل‌شده‌اند که به این سم‌ها، سموم AB می‌گویند. برای مثال *کلستریدیوم بوتولینوم* یک توکسین پروتئینی با فعالیت آنزیمی به نام نوروتوکسین تولید می‌کند که باعث بوتولیسم در میزبان می‌شود که به هفت سرو تیپ A-G تقسیم می‌شود که مطالعات پروتئومیک تفاوت آن‌ها را آشکار کرده و اطلاعات جامعی در مورد این میکروارگانیسم‌ها ارائه کرده است(۳۲). همچنین توکسین موجود در باسیلوس آنتراسیس عامل سیاه زخم، یک سم پروتئینی است که از سه جزء پروتئینی که هر یک به‌تنهایی غیر سمی هستند، تشکیل‌شده است. آنتی‌ژن محافظتی(PA)، فاکتور ادم(EF) و فاکتور کشنده (LF) که ترکیب سمی را در تجمیع با یکدیگر تشکیل می‌دهند و درنهایت باعث ایجاد بیماری شدیدی به نام آنتراکس یا سیاه زخم در میزبان می‌شوند (۳۳). مثال دیگر باکتری *کلستریدیوم تتانی* است که یک پروتئین خطرناک سمی به نام تتانواسپاسمین را ترشح می‌کند که عملکرد انتقال‌دهنده‌های عصبی را مهار کرده و باعث بیماری کزاز در میزبان می‌شود. در درمان این بیماری، پروتئین‌های مختلف این باکتری به‌عنوان مولکول‌های مؤثر در تهیه‌ی واکسن عمل کند. بهترین راه برای محافظت در برابر کزاز استفاده از واکسنی است که از نوروتوکسین این باکتری ساخته‌شده است که ایمنی بدن را در برابر عفونت افزایش می‌دهد (شکل ۲)(۳۴).

شکل ۲. روش های مطالعه جامع پروتئین های ساختاری و عملکردی میکروارگانیسم ها

۷. پری بیوتیک، پروبیوتیک، سین بیوتیک، پست بیوتیک، هایپرپست بیوتیک

ترکیب میکرو فلور روده نقش مهمی در سلامت انسان ایفا می‌کند، زیرا تغییر در میکرو فلور روده باعث ایجاد بیماری‌های پاتولوژیک مختلف می‌شود. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که وقتی به مقدار کافی مصرف شوند، برای

میکروب‌های میزبان مفید هستند. پری بیوتیک ها به‌عنوان غذا برای پروبیوتیک ها عمل می‌کنند و فواید سلامتی و فیزیولوژیکی را برای میزبان فراهم می‌کنند(۳۵-۳۷). سین‌بیوتیک‌ها پروبیوتیک‌های نسل بعدی هستند که با فرمول‌بندی‌های مختلف پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها ساخته می‌شوند که به‌صورت هم‌افزایی برای ایجاد مجدد اکولوژی روده سالم کار می‌کنند. پست بیوتیک ها محصولات محلول یا فرآورده‌های جانبی متابولیکی هستند که توسط پروبیوتیک ها ترشح می‌شوند یا پس از لیز آن‌ها آزاد می‌شوند و مزایای سلامتی را برای میزبان ارائه می‌دهند(۳۸, ۳۹). پست بیوتیک ها نسبت به پروبیوتیک ها، ایمن‌تر هستند زیرا در مقایسه با آن‌ها فاقد عوارض جانبی جدی هستند. نوتری بیوتیک ها، پروبیوتیک هایی هستند که با تولید مواد مغذی ضروری مانند ویتامین‌ها و مواد معدنی و تبدیل پیش سازها به متابولیت های زیست فعال، عملکردهای تغذیه‌ای را ایجاد می‌کنند. فارمابیوتیک ها محصولات پروبیوتیکی هستند که دارای اثر فارماکولوژیک اثبات‌شده در سلامت یا بیماری هستند(۴۰).

جوامع پزشکی و دارویی مدت‌هاست که به دنبال داروهای ضد میکروبی بوده‌اند که در صورت استفاده ترکیبی، تأثیر آن‌ها را بهبود می‌بخشند، فرآیندی که به‌عنوان هم‌افزایی یا سینرژیسم شناخته می‌شود. استفاده هم‌زمان از داروها برای افزایش اثربخشی آن‌ها منجر به گسترش هم‌افزایی در استفاده از مواد دیگر مانند استفاده هم‌زمان از عصاره‌های گیاهی و داروها شد. این گسترش استفاده هم‌افزایی از مواد ضد میکروبی با ظهور پروبیوتیک ها گسترش بیشتری یافت و منجر به استفاده هم‌زمان از پست بیوتیک های مشتق شده از پروبیوتیک های مختلف شد. ازآنجایی‌که هر پست بیوتیک مشتق شده از یک پروبیوتیک خاص اثرات متنوعی از خود نشان می‌دهد، استفاده هم‌زمان از پست بیوتیک های مشتق شده از پروبیوتیک های مختلف می‌تواند این اثرات مفید و متنوع پست بیوتیک ها را به‌ویژه در بحث ضد میکروبی تقویت کرده و پیشگیری از مقاومت آنتی‌بیوتیکی را بهبود بخشد؛ بنابراین، ما برای اولین بار اصطلاح جدید هایپرپست بیوتیک (Hyperpostbiotic) را برای این ترکیبات ارائه می‌دهیم که مجموعه‌ای از پست بیوتیک های به‌دست‌آمده از دو یا چند پروبیوتیک مختلف است که به‌طور هم‌افزایی اثرات مفید متعددی را نشان می‌دهند(۴۱).

۸. آنالیز پروتئومیکی پست بیوتیک های مشتق از پروبیوتیک ها

یکی از نیازهای ضروری زندگی انسان مواد مغذی است که مصرف آن‌ها باعث رشد و سلامتی می‌شود. میکروبیوتای دستگاه گوارش شامل میکروارگانیسم‌های مهمی است که علاوه بر کمک به سلامت بدن، به‌عنوان پروبیوتیک شناخته می‌شوند. این سویه‌ها محصولات جانبی متابولیکی خاصی به نام پست بیوتیک تولید می‌کنند. پروبیوتیک ها باید در شرایط سخت پردازش، ذخیره‌سازی، توزیع، آماده‌سازی و هضم زنده بمانند تا مهم‌ترین اثرات سلامتی خود را نشان دهند. برعکس، پست بیوتیک ها با موفقیت بر این شرایط نامطلوب غلبه کرده‌اند و ممکن است جایگزین مناسبی برای پروبیوتیک ها باشند(41, 42).

پست‌بیوتیک‌ها به دلیل ساختار شیمیایی خاص، ویژگی‌های ایمن، ماندگاری طولانی و مولکول‌های سیگنال دهنده مختلف، دارای خواص مختلفی مانند ضد دیابتی، ضدالتهابی، تعدیل‌کننده ایمنی، ضد فشارخون، ضد پیری و مهار تکثیر غیرطبیعی سلول‌ها هستند. کاهش مشکلات گوارشی و ادراری، کاهش بیماری‌های قلبی، تقویت سلامت روان، حفظ سلامت پوست و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز از دیگر اثرات مفید آن‌ها می‌باشند. درنتیجه بررسی‌ها تائید می‌کند که پست بیوتیک ها می‌توانند نقش اساسی و بالینی پروبیوتیک ها را تقلید کنند و به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد خود می‌توانند در سیستم سلامت به‌عنوان مواد دارویی و حافظ سلامت مورداستفاده قرار گیرند و در مقایسه با پروبیوتیک ها، خطرات کمتری داشته و به دلیل فقدان باکتری‌های زنده، مصرف ایمن‌تری دارند(۴۳).

۸,۱. پست بیوتیک های آنزیمی

آنزیم‌ها در حال حاضر در کاربردهای مختلفی ازجمله مواد غذایی، صنایع کاغذ برای سفید کردن خمیرکاغذ، کشاورزی و

صنعت چرم استفاده می‌شوند و به دلیل هزینه کم قابل‌توجهی که دارند، در کاربردهای جدید ازجمله در مصارف درمانی مورداستفاده قرار می‌گیرند. پروبیوتیک ها می‌توانند انواع مختلفی از آنزیم‌ها را تولید کنند که می‌توانند در فرآیندهای بیولوژیکی مختلف ازجمله به‌عنوان پپتیدازها، لیپازها، آمیلازها، پروتئازها، اوره آزها، فنل اکسیدازها و غیره نقش داشته باشند و در میان این تنوع بسیار، چندین آنزیم به‌عنوان پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شوند(۴۴).

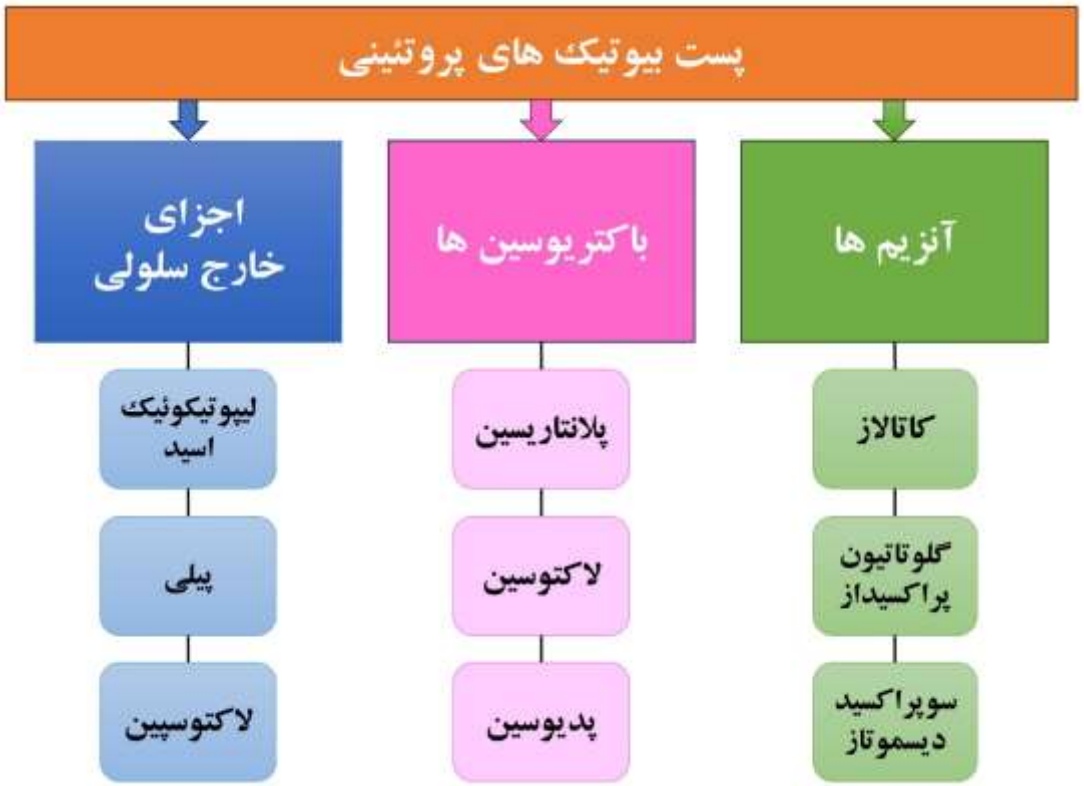
باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از طریق سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی خود مانند کاتالاز(CAT) ، گلوتاتیون پراکسیداز(GPx) ، NADH اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) که رادیکال‌های آزاد را به O2 و پراکسید هیدروژن (H2O2) تبدیل می‌کنند، از بین ببرند؛ بنابراین، نقش مهمی در مبارزه با رادیکال‌های آزاد اکسیژن و استرس اکسیداتیو ایفا می‌کند(۴۵). در پست بیوتیک های مشتق از سویه‌های متعلق به *لاکتوکوکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی که به جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد در میزبان کمک می‌کند، نشان داده‌شده است. در مطالعه‌ای نشان داده‌شده است که *لاکتوباسیلوس کازئی* می‌تواند کاتالاز یا سوپراکسید دیسموتاز تولید کند که باعث بهبود اولیه کاهش وزن در مبتلایان به بیماری کرون ناشی از اسید تری نیتروبنزن سولفونیک می‌شود و علاوه بر این، فعالیت‌های آنزیمی را بهبود می‌بخشد و التهاب روده را کاهش می‌دهد. همچنین، چندین باکتری اسیدلاکتیک ازجمله *بیفیدوباکتریوم ادولسنتیس*، *بیفیدوباکتریوم لانگوم*، *بیفیدوباکتریوم اینفانتیس* و *بیفیدوباکتریوم بریو* قادر به تجزیه پراکسید هیدروژن از طریق انتشار NADH پراکسیداز هستند (۴۶, ۴۷).

۸,۲. باکتریوسین ها

باکتریوسین‌ها پپتیدهای ضد میکروبی خارج سلولی هستند که در ریبوزوم‌ها به‌عنوان متابولیت‌های اولیه توسط باکتری‌ها و آرکئی باکتری‌های با تنوع فیلوژنتیکی سنتز می‌شوند و به‌عنوان عوامل مهمی در تنوع زیستی میکروبیوتای روده در نظر گرفته می‌شوند. پروبیوتیک‌ها می‌توانند تعدادی باکتریوسین تولید کنند که پاتوژن ها و آسیب‌های ایجادی توسط آن‌ها را مهار می‌کنند که به دلیل کاربردهای گسترده‌ای که در پردازش و تخمیر مواد غذایی دارند، توجه زیادی را به‌عنوان نگهدارنده‌های زیستی طبیعی به خود جلب می‌کنند. باکتریوسین‌های تولیدشده توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک معمولا پپتیدهای کاتیونی کوچک ۳۰ تا ۶۰ اسیدآمینه‌ای هستند که از طریق ایجاد منافذ بر روی غشاهای سیتوپلاسمی باعث نشت اجزای سازنده حیاتی درون‌سلولی می‌شوند (۴۸).

علاوه بر کاربردهای بالقوه آن‌ها در نگهداری مواد غذایی، باکتریوسین های ترشح‌شده توسط پروبیوتیک ها دارای توانایی مقابله در برابر چندین پاتوژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک مانند عفونت‌های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* از خود نشان می‌دهند. علاوه بر این، باکتریوسین‌ها به ظرفیت‌های ضدالتهابی پروبیوتیک‌ها کمک می‌کنند. درواقع، پلانتاریسین EF(PlnEFI)، یک باکتریوسین کلاس دو تولیدشده توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* است که فعالیت ضدالتهابی قوی در برابر بیماری التهابی روده ناشی از ۲،۴،۶-ترینیتروبنزن سولفونیک اسید (TNBS) نشان داده است(۴۹).

در انسان‌های چاق ناشی از رژیم غذایی، باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* افزایش وزن و التهاب در کبد و بافت چربی را به حداقل می‌رساند. باکتریوسین پلانتاریسین *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* فعالیت قابل‌توجهی را به‌عنوان یک عامل پروبیوتیک در کاهش وزن بدن و کاهش مصرف غذا در غیاب تغییرات قابل‌مشاهده در میکروبیوتای روده ایجاد می‌کند. علاوه بر این، مهارکننده فعال‌کننده پلاسمینوژن-۱ (PAI-1) که در ایجاد دیابت نوع ۲ و چاقی دخیل است، کاهش قابل‌توجهی پس از مواجهه با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* داشت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که پپتیدهای PlnEF می‌توانند از اختلالات ناشی از سایتوکین در پایداری سد اپیتلیال جلوگیری کنند که نشان‌دهنده اثر تعدیلی مستقیم پلانتاریسین بر روی اپیتلیوم روده است(۵۰).



شکل ۳. پست بیوتیک های پروتئینی حاصل از ساختار و فعالیت پروبیوتیک ها

۸،۳. اجزای پوششی و خارج سلولی

دیواره سلولی باکتری‌ها از ساختارهایی به نام لیپوپلی ساکارید درگرم منفی‌ها و پپتیدوگلیکان در گرم مثبت و گرم منفی‌ها که به‌طور مداوم در طول رشد و مرگ سلول‌های باکتریایی آزاد می‌شوند، تشکیل شده است. پپتیدوگلیکان یک ساختار پیچیده سفت‌وسخت است که از قند و اسیدآمینه ساخته‌شده و ۳۰ تا ۷۰ درصد دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت را تشکیل می‌دهد و متشکل از اسیدهای تیکوئیک، پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها می‌باشد. اسیدهای تیکوئیک مولکول‌هایی با بار منفی هستند که فقط در گرم مثبت‌ها وجود داشته و به دو نوع اسید تیکوئیک دیواره‌ای و لیپو تیکوئیک اسید غشایی بر اساس اتصال آن‌ها به ترتیب به پپتیدوگلیکان و غشای سلولی تقسیم می‌شوند(۵۱). اجزای دیواره سلولی باکتری در سیگنال دهی میزبان و همچنین در چسبندگی نقش دارند. این‌ها ماکرومولکول های مؤثری هستندکه در فعال کردن سیستم ایمنی و آزادسازی سایتوکین های مختلف ازجمله IL-1 ، IL-6، IL-8، IL-12، TNFα وIFNα نقش دارند که انتشار بیش‌ازحد آن‌ها ممکن است منجر به واکنش‌های پاتوفیزیولوژیکی مانند شوک سپتیک، نارسایی چند عضوی و غیره شود. دو هیدرولاز پپتیدوگلیکان شامل پروتئین‌های p75 و p40 از باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* برای حفظ یکپارچگی پوشش روده و سرکوب مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی شناخته‌شده‌اند. لیپوتیکوئیک اسید *بیفیدوباکتریوم ها* با سرکوب فعالیت تنظیمی سلول‌های T تنظیم‌کننده +CD 25 و افزایش ایمنی سلولی، تکثیر سلول‌های کبدی را کاهش می‌دهد که نشان‌دهنده خاصیت ضد سرطانی آن است(۵۲).

پیلی ساختاری متشکل از پروتئین‌های پیلین است که امتداد خارج سلولی طولانی روی سطح سلول بوده و در چسبندگی سلولی به دیواره روده یا تجمع باکتری‌ها نقش دارند. باکتری از این ساختارها می‌تواند برای تبادل مواد ژنتیکی در طول کانژوگاسیون یا هم یوغی نیز استفاده کند. این ساختار به‌عنوان پست بیوتیک

عمل کرده و کاربردهای متنوعی ازجمله تعدیل سیتوکین های پیش التهابی در رشد سیستم ایمنی نوزادان داشته باشد(۵۳).
لاکتوسپین ها گروه وسیعی از پروتئینازهای پوشش سلولی را تشکیل می‌دهند و عمدتاً توسط *لاکتوکوکوس ها* و *لاکتوباسیل ها* بیان می‌شوند. بسته به گونه یا حتی سویه مربوطه، لاکتوسپین های *لاکتوکوکی* و *لاکتوباسیلی* توسط ژن‌های *prtP*، *prtB* و *prtH* کدگذاری می‌شوند. لاکتوسپین های کدگذاری شده با PrtP بیشتر به دلیل خواص کازئینولیتیک خود شناخته‌شده‌اند و نقش مهمی در صنایع لبنی دارند و همچنین بر اساس ویژگی سوبسترای کازئینولیتیک آن‌ها به پروتئینازهای نوع PI و PIII تقسیم می‌شوند. این پروتئین‌های نقش‌های متنوعی داشته که مهم‌ترین آن تأثیر ضدالتهابی آن‌ها درزمینه بیماری‌های التهابی مزمن می‌باشد(شکل ۳)(۵۴).

نتیجه‌گیری

علم پروتئومیکس نقشی کلیدی در شناخت هرچه بیشتر میکروارگانیسم‌های مختلف و اثرات مضر و مفید آن‌ها را ایفا می‌کند که با شناخت مکانیسم‌های ایجاد بیماری توسط پاتوژن ها و همچنین روش‌هایی که پروبیوتیک ها از طریق آن‌ها اثرات مفید خود را بر بدن میزبان اعمال می‌کنند، می‌توان به‌طور مؤثرتری در برابر میکروب‌های بیماری‌زا مقابله کرده و از میکروب‌های مفید استفاده‌های بیشتری در جهت اهداف درمانی نمود که برای افزایش اطلاعات ، مطالعات جامع‌تری نیز در آینده برای شناسایی محتوای پروتئومی میکروارگانیسم‌های مختلف موردنیاز می‌باشد تا ابعاد بیشتری از این مسئله روشن گردد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با کد اخلاق IR.TBZMED.REC.1401.738 و شماره گرنت ۷۰۲۷۷ مورد حمایت دانشگاه علوم پزشکی تبریز می باشد.

References

.۱ Balducci E, Papi F, Capialbi DE, Del Bino L. Polysaccharides' Structures and Functions in Biofilm Architecture of Antimicrobial-Resistant (AMR) Pathogens. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(4):4030.
.۲ Zhang Z, Peng H, Yang D, Zhang G ,Zhang J, Ju F. Polyvinyl chloride degradation by a bacterium isolated from the gut of insect larvae. Nature Communications. 2022;13(1):5360.
.۳ Ozma MA, Khodadadi E, Rezaee MA, Kamounah FS, Asgharzadeh M, Ganbarov K, et al. Induction of proteome changes involved in biofilm formation of Enterococcus faecalis in response to gentamicin. Microbial Pathogenesis. 2021;157:105003.
.۴ Li N, Li S, Wang Q, Yang S, Hou Y, Gao Y, et al. A novel visualization method for the composition analysis of processed garlic by MALDI-TOF imaging mass spectrometry (MSI) and Q-TOF LC-MS/MS. Food Research International. 2023;168:112746.
.۵ Sechovcová H, Rudl Kulhavá L, Fliegerová K, Killer J, Kopečný J. Advantages of label free method in comparison with 2DE proteomic analysis of Butyrivibrio fibrisolvens 3071 grown on different carbon sources. Italian Journal of Animal Science. 2022;21(1):1508-19.
.۶ Green ER, Mecsas J. Bacterial secretion systems: an overview. Virulence mechanisms of bacterial pathogens. 2016:213-39.
.۷ Goosens VJ, Monteferrante CG, Van Dijl JM. The Tat system of Gram-positive bacteria. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2014;1843(8):1698-706.
.۸ Freudl R. Signal peptides for recombinant protein secretion in bacterial expression systems .Microbial cell factories. 2018;17(1):52.
.۹ Tseng T-T, Tyler BM, Setubal JC. Protein secretion systems in bacterial-host associations, and their description in the Gene Ontology. BMC microbiology. 2009;9(1):1-9.
.۱۰ Naskar S, Hohl M, Tassinari M, Low HH .The structure and mechanism of the bacterial type II secretion system. Molecular Microbiology. 2021;115(3):412-24.
.۱۱ Hotinger JA, Pendergrass HA, May AE. Molecular targets and strategies for inhibition of the bacterial type III secretion system (T3SS) ;Inhibitors directly binding to T3SS components. Biomolecules. 2021;11(2):316.
.۱۲ Christie PJ, Whitaker N, González-Rivera C. Mechanism and structure of the bacterial type IV secretion systems. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.۹۱-۱۵۷۸:(۸)۱۸۴۳;۲۰۱۴ .
.۱۳ Abby SS, Cury J, Guglielmini J, Néron B, Touchon M, Rocha EP. Identification of protein secretion systems in bacterial genomes. Scientific reports. 2016;6(1):1-14.

.۱۴ Arenas J, Catón L, Van Den Hoeven T, De Maat V, Cruz Herrero J, Tommassen J. The outer-membrane protein MafA of Neisseria meningitidis constitutes a novel protein secretion pathway specific for the fratricide protein MafB. Virulence. 2020;11(1):1701-15.
.۱۵ Ho BT, Dong TG, Mekalanos JJ. A view to a kill: the bacterial type VI secretion system. Cell host & microbe. 2014;15(1):9-21.
.۱۶ Tran HKR, Grebenc DW, Klein TA, Whitney JC. Bacterial type VII secretion: An important player in host-microbe and microbe- microbe interactions. Molecular Microbiology. 2021;115(3):4.۸۹-۷۸
.۱۷ Oatley P, Kirk JA, Ma S, Jones S, Fagan RP. Spatial organization of Clostridium difficile S-layer biogenesis. Scientific Reports. 2020;10(1):14089.
.۱۸ Sal MS, Li C, Motalab M, Shibata S, Aizawa S-I, Charon NW. Borrelia burgdorferi uniquely regulates its motility genes and has an intricate flagellar hook-basal body structure. Journal of bacteriology. 2008;190(6):1912-21.
.۱۹ Pei D. How do biomolecules cross the cell membrane? Accounts of Chemical Research. 2022;55(3):309-18.
.۲۰ Abhyankar W, Pandey R, Ter Beek A, Brul S, de Koning LJ, de Koster CG. Reinforcement of Bacillus subtilis spores by cross-linking of outer coat proteins during maturation. Food Microbiology. 2015;45:54-62.
.۲۱ Sartorio MG, Pardue EJ, Feldman MF, Haurat MF. Bacterial outer membrane vesicles: from discovery to applications. Annual review of microbiology. 2021;75:609-30.
.۲۲ Malviya J, Alameri AA, Al-Janabi SS, Fawzi OF, Azzawi AL, Obaid RF, et al. Metabolomic profiling of bacterial biofilm: trends, challenges, and an emerging antibiofilm target. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2023;39(8):212.
.۲۳ Ringgaard S, Zepeda-Rivera M, Wu X, Schirner K, Davis BM, Waldor MK. ParP prevents dissociation of CheA from chemotactic signaling arrays and tethers them to a polar anchor. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(2):E255-E64.
.۲۴ Ozma MA, Abbasi A, Asgharzadeh M, Pagliano P, Guarino A, Köse Ş, Kafil HS. Antibiotic therapy for pan-drug-resistant infections. Le Infezioni in Medicina. 2022;30(4):5.۲۵
.۲۵ Larcher R, Laffont-Lozes P, Roger C, Doncesco R, Groul-Viaud C, Martin A, et al. Last resort beta-lactam antibiotics for treatment of New-Delhi Metallo-Beta-Lactamase producing Enterobacterales and other Difficult-to-Treat Resistance in Gram-negative bacteria: A real-life study. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2022;12:1798.
.۲۶ Cui K, Yang W, Liu S, Li D, Li L, Ren X, et al. Synergistic Inhibition of MRSA by Chenodeoxycholic Acid and Carbapenem Antibiotics. Antibiotics. 2022;12(1.۷۱:(
.۲۷ Young JW, Zhao Z, Wason IS, Duong van Hoa F. A Dual Detergent Strategy to Capture a Bacterial Outer Membrane Proteome in Peptidiscs for Characterization by Mass Spectrometry and Binding Assays. Journal of Proteome Research. 2022.
.۲۸ Weston N, Sharma P, Ricci V, Piddock LJ. Regulation of the AcrAB-TolC efflux pump in Enterobacteriaceae. Research in microbiology. 2018;169(7-8):425-31.
.۲۹ Jurėnas D, Fraikin N, Goormaghtigh F, Van Melderen L. Biology and evolution of bacterial toxin–antitoxin systems. Nature Reviews Microbiology. 2022;20(6):335-50.
.۳۰ Biernbaum EN, Kudva IT. AB5 enterotoxin-mediated pathogenesis: perspectives gleaned from shiga toxins. Toxins. 2022;14(1):62.
.۳۱ Mostafa N, Salah M, Elashrey A. Incomplete Hemolytic MRSA Strains Associated with Hemolysin and Panton-Valentine Leucocidin Virulence Genes as a Cause of Blood Stream Infections. Egyptian Journal of Medical Microbiology. 2022;31(4):141-9.
.۳۲ Matak I, Bölcskei K, Bach-Rojecky L, Helyes Z. Mechanisms of botulinum toxin type A action on pain. Toxins. 2019;11(8):459.
.۳۳ Yang NJ, Isensee J, Neel DV, Quadros AU, Zhang H-XB, Lauzadis J, et al. Anthrax toxins regulate pain signaling and can deliver molecular cargoes into ANTXR2+ DRG sensory neurons. Nature neuroscience. 2022;25.۷۹-۱۶۸:(۲)
.۳۴ Chapeton-Montes D, Plourde L, Deneve C, Garnier D, Barbirato F, Colombié V, et al. Tetanus toxin synthesis is under the control of a complex network of regulatory genes in Clostridium tetani. Toxins. 2020;12(5):328.
.۳۵ El-Saadony MT, Alagawany M, Patra AK, Kar I, Tiwari R, Dawood MA, et al. The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. Fish & shellfish immunology. 2021;117:36-52.
.۳۶ Ozma MA, Abbasi A, Sabahi S. Characterization of Postbiotics Derived from Lactobacillus paracasei ATCC 55544 and its Application in Malva sylvestris Seed Mucilage Edible Coating to the Improvement of the Microbiological, and Sensory Properties of Lamb Meat During Storage. 2022.
.۳۷ Ozma MA, Abbasi A, Ahangarzadeh Rezaee M, Hosseini H, Hosseinzadeh N, Sabahi S, et al. A critical review on the nutritional and medicinal profiles of garlic's (Allium sativum L.) bioactive compounds. Food Reviews International. 2023;39(9):6324-61.

.۳۸ Ozma MA, Abbasi A, Akrami S, Lahouty M, Shahbazi N, Ganbarov K, et al. Postbiotics as the key mediators of the gut microbiota-host interactions. Le infezioni in medicina. 2022;30(2):180.
.۳۹ Ghotaslou R, Nabizadeh E, Memar MY, Law WMH, Ozma MA, Abdi M, et al. The metabolic, protective, and immune functions of Akkermansia muciniphila. Microbiological Research. 2022:127245.
.۴۰ María Remes-Troche J, Coss-Adame E, Ángel Valdovinos-Díaz M, Gómez-Escudero O, Eugenia Icaza-Chávez M, Antonio Chávez-Barrera J, et al. Lactobacillus acidophilus LB: A useful pharmabiotic for the treatment of digestive disorders. Therapeutic advances in gastroenterology. 2020;13:1756284820971201.
.۴۱ Ozma MA, Moaddab SR, Hosseini H, Khodadadi E, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, et al. A critical review of novel antibiotic resistance prevention approaches with a focus on postbiotics. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2023:1-19.
.۴۲ Sabahi S, Homayouni Rad A, Aghebati-Maleki L, Sangtarash N, Ozma MA, Karimi A, et al. Postbiotics as the new frontier in food and pharmaceutical research. Critical reviews in food science and nutrition. 2023;63(26):8375-402.
.۴۳ Park M, Joung M, Park J-H, Ha SK, Park H-Y. Role of postbiotics in diet-induced metabolic disorders. Nutrients. 2022;14(18):3701.
.۴۴ TENEA GN. Postbiotics: a solution to protect tropical fruits towards postharvest adulteration. AgroLife Sci J. 2021;10:189-96.
.۴۵ Osman A, El-Gazzar N, Almanaa TN, El-Hadary A, Sitohy M. Lipolytic postbiotic from Lactobacillus paracasei manages metabolic syndrome in albino wistar rats. Molecules. 2021;26(2.۴۷۲:(
.۴۶ Wegh CA, Geerlings SY, Knol J, Roeselers G, Belzer C. Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. International journal of molecular sciences. 2019;20(19):4673.
.۴۷ Mirzaei R, Kavyani B, Nabizadeh E, Kadkhoda H, Ozma MA, Abdi M. Microbiota metabolites in the female reproductive system: Focused on the short-chain fatty acids. Heliyon. 2023.
.۴۸ Ooi MF, Mazlan N, Foo HL, Loh TC, Mohamad R, Rahim RA, Ariff A. Effects of carbon and nitrogen sources on bacteriocin-inhibitory activity of postbiotic metabolites produced by Lactobacillus plantarum I-UL4. Malaysian Journal of Microbiology. 2015:176-84.
.۴۹ Li H, Guo L, Zhang X, Mu H, Sha S, Lin Y, et al. Whole-genome sequencing combined with mass spectrometry to identify bacteriocin and mine silent genes. LWT. 2022;169:113975.
.۵۰ Tai HF, Foo HL, Abdul Rahim R, Loh TC, Abdullah M, Yoshinobu K. Molecular characterisation of new organisation of plnEF and plw loci of bacteriocin genes harbour concomitantly in Lactobacillus plantarum I-UL4. Microbial Cell Factories. 2015;14(1):1-13.
.۵۱ Shiraishi T, Yokota S, Fukiya S, Yokota A. Structural diversity and biological significance of lipoteichoic acid in Gram-positive bacteria: focusing on beneficial probiotic lactic acid bacteria. Bioscience of microbiota, food and health. 2016;35(4):147-61.
.۵۲ Gao J, Wang L, Jiang J, Xu Q, Zeng N, Lu B, et al. A probiotic bi-functional peptidoglycan hydrolase sheds NOD2 ligands to regulate gut homeostasis in female mice. Nature Communications. 2023;14(1):3338.
.۵۳ Teame T, Wang A, Xie M, Zhang Z, Yang Y, Ding Q, et al. Paraprobiotics and postbiotics of probiotic lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: a review. Frontiers in nutrition. 2020;7:570344.
.۵۴ Coll-Marqués JM, Bäuerl C, Zúñiga M, Pérez-Martínez G. Differences in the expression of cell envelope proteinases (CEP) in two Lactobacillus paracasei probiotic strains. FEMS Microbiology Letters. 2020;367(13):fnaa102.

Review Article

Application of Proteomics in Medical Bacteriology with Emphasis on Proteomic Analysis of Postbiotics

Received: 06/12/2023 - Accepted: 30/06/2024

Mahdi Asghari Ozma [1*]
Masoud Lahouty [2]
Niloofar Fallahi Alileh [1]
Sina Mahdavi [3]
Masoud Asghari Ozma [4]
Javad Nezhadi [3]
Amin Abbasi [5]
Mohammad Asgharzadeh [6]

[1] *Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[2] *Department of Microbiology, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[3] *Department of Microbiology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*
[4] *Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Tabriz branch, Tabriz, Iran*
[5] *Department of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Science and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[6] *Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

Email: asghariozma@tbzmed.ac.ir

Abstract

Background: The structure of bacteria consists of various macromolecules such as proteins, polysaccharides, phospholipids and nucleic acids, which, in addition to their role in forming their structure, play an essential role in maintaining their viability and pathogenicity. This study aimed to investigate the application of proteomics in the analysis of proteomic profiles of bacteria and their derived postbiotics.

Materials and Methods: In this review study, relevant data were collected by searching for the keywords "probiotics, postbiotics, proteome, proteomics, biofilm, antibiotic resistance, toxin, and bacteriocin" in the Web of Science, PubMed, Medline, and Scopus databases. All articles related to experimental studies were included in the study and articles that did not contain the full text were excluded.

Results: To study microbial macromolecules, in addition to genomic methods, there are also proteomic methods that provide information about the structural and functional proteins of bacteria. In the scope of bacterial proteomics studies, in addition to pathogenic bacteria, probiotic bacteria are also mentioned, which are part of the structure of this Microorganisms, as well as due to their metabolic activity, produce compounds known as postbiotics, which are responsible for their beneficial effects and have various properties, including antimicrobial, anti-inflammatory and immune system modulating effects.

Conclusion: Utilizing applied proteomics in the field of proteomic profile analysis of bacteria, particularly probiotics can be considered a new approach towards the comprehensive knowledge of postbiotic metabolites, which is the basis for the enrichment of the food matrices for the development of functional foods for health-promoting objectives.

Keywords: Bacteriology, Postbiotic, Probiotic, Proteome, Proteomics

Acknowledgement: There is no conflict of interest