Journal of Microbial World
Volume 15, No. 2, September 2022

Review Article

Antimicrobial peptides of haloarchaea: Properties and applications of halocin

Soheila Abbasi [1], **Giti Emtiazi** [1]

[1] Department of Cell Biology, Molecular and Microbiology of the Faculty of Biological Sciences and Technology University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Abstract

The high incidence of drug-resistant bacteria is currently a major global health concern, which, of course, calls for an immediate search for new antimicrobial mechanisms. Halocins synthesized by haloarchaea are usually stable at extremophile conditions and these features have given them great potential in the field of biotechnology. In the present study, literature search was performed based on search of antimicrobial peptides derived from *archaea*, in several online research tools, such as Pubmed Medline, Scopus, Google scholar, Elsevier databases, Irandoc, Iranmedex, Magiran, SID and MEDLIB limited to the articles published between 1992 to 2021.The reason for the use of archaea antimicrobial compounds can be due to the mechanism of action and accuracy in identifying the target molecule, which has been proven in studies. But the production of pure halocin is very difficult due to the difficult techniques for culturing archaea and purification the active compounds produced.Antimicrobial peptides are attractive targets for drug development. Among the important uses of halocins, we can mention antimicrobial activity, preservative for salty food products, protection of tanned skin, prevention of heart damage, anti-cancer activity and as a tool for DNA absorption.

Keywords: Haloarchaea, Antimicrobial peptide, Bacteriocin, Archaeocin, Halocin.

Received: 9 April 2022 Revised: 5 June 2022 Accepted: 11 August 2022

Correspondence to: Giti Emtiazi
Tel: +98 9138101743
E-mail: emtiazi@yahoo.com

Journal of Microbial World 2022, 15(2): 88-108
DOI: 10.30495/jmw.2022.1956712.2018

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال پانزدهم شماره دوم (پیاپی ۵۱) تابستان ۱۴۰۱
صفحات ۲۶-۶

Review Article

پپتیدهای ضدمیکروبی آرکیاهای نمک دوست: خواص و کاربرد هالوسین

سهیلا عباسی[۱]، گیتی امتیازی*[۱]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

چکیده

بروز بالای باکتری‌های مقاوم به دارو، در حال حاضر نگرانی عمده سلامت جهانی است و خواستار جستجوی فوری ساز و کارهای ضد میکروبی جدید است. بنابراین عوامل جدید و پپتیدهای ضد میکروبی با یک عملکرد جدید نیاز است. هالوسین‌ها که توسط هالوآرکیاها سنتز می‌شوند، معمولاً مقاوم به شرایط سخت هستند و این ویژگی‌ها به آن‌ها توانمندی زیادی در زمینه زیست فناوری داده است. در مطالعه حاضر از بانک‌های اطلاعاتی مختلف شامل Elsevier databases، Pubmed، Google Scholar، Scopus، MEDLIB، SID، Magiran، Iranmedex، Irandoc استفاده شده و پپتیدهای ضد میکروبی حاصل از آرکیاهای مطرح شده در مقالات منتشر شده در سال‌های 1992 تا 2021 استخراج ومطالعه مروری بر روی آن‌ها انجام گرفته است. دلیل استفاده از ترکیبات ضد میکروبی آرکیاها، می‌تواند ناشی از مکانیسم عمل و دقت در شناسایی مولکول هدف باشد. اما تولید هالوسین خالص به دلیل تکنیک‌های مشکل برای کشت آرکیا و خالص سازی ترکیبات فعال تولید شده بسیار مشکل است. به طور کلی، پپتیدهای ضد میکروبی اهدافی جذاب برای توسعه دارو هستند. از کاربردهای مهم هالوسین‌ها می‌توان به فعالیت ضد میکروبی، نگهدارنده برای محصولات غذایی شور، حفظ پوست دباغی شده، جلوگیری از صدمات قلبی، فعالیت ضد سرطانی و به عنوان ابزار جذب DNA اشاره کرد.

واژگان کلیدی: هالوآرکیا، پپتیدهای ضدمیکروبی (AMPs)، اکسترموفیل، آرکئوسین، هالوسین.

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱/۲۰ ویرایش مقاله: ۱۴۰۱/۳/۱۵ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۵/۲۰

مقدمه

کاربرد گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت آن‌ها در برابر حذف و اثرات مضرشان بر محیط‌های آبی و انسان‌ها به یکی از نگرانی‌های نوظهور در سال‌های اخیر منجر شده است (۱). علاوه‌براین، افزایش مداوم مقاومت دارویی در باکتری‌ها به دنبال مصرف بیش از حد داروهای مصنوعی و آنتی‌بیوتیک‌ها به محیط زیست و تعادل میکروبی آسیب می‌زند (۲و۳). بنابراین عوامل جدید و پپتیدهای ضدمیکروبی با یک عملکرد جدید مورد نیاز است.

پپتیدهای ضدمیکروبی طبیعی یک گزینه درمانی جایگزین برای درمان عفونت‌های مقاوم به دارو می‌باشند. این مولکول‌ها دارای تنوع ساختاری بالا و فعالیت ضدمیکروبی هستند (٤). آن‌ها با خواص خارق العاده‌شان مانند وسیع الطیف بودن فعالیت، عمل سریع و ایجاد مقاومت غیر محتمل، به مولکول‌های امیدوار کننده‌ای تحت عنوان آنتی‌بیوتیک‌های جدید تبدیل شده‌اند (۵). پپتیدهای ضدمیکروبی طبیعی با هدف ساخت نسل جدید

*) آدرس برای مکاتبه: گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
تلفن: ۰۹۱۳۸۱۰۱۷۴۳ پست الکترونیک: emtiazi@yahoo.com

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

مولکول‌های مصنوعی به دست آمده از محیط زیست، مورد بررسی قرار گرفته‌اند که بررسی این ترکیبات می‌تواند یک گزینه امیدوار کننده برای مهندسی داروهای چند منظوره و فعال‌تر باشد (٦). استفاده از رویکردهای طراحی منطقی، امکان تولید ساختارهای قابل تغییر مصنوعی پپتیدهای ضدمیکروبی پیشرفته را فراهم کرده است که باعث کاهش محدودیت‌ها و افزایش مزایای طبیعی این مولکول‌ها شده است (۷و۸). به علاوه پپتیدهای ضد میکروبی اهدافی جذاب برای توسعه دارو هستند، زیرا اندازه کوچک آن‌ها، هزینه ساخت آن‌ها را در مقایسه با پپتیدهای بزرگ‌تر کمتر می‌کند (۸).

اکسترموفیل‌ها گروهی از موجودات هستند که با شرایط محیطی شدید مانند دمای بالا و پایین، شوری و فشار سازگار شده‌اند. در حالی که این شرایط برای بسیاری از اشکال زندگی دشوار است. ساز و کارهای فوق العاده آن‌ها برای بقاء آن‌ها را برای استفاده در زمینه‌های مختلف بیوتکنولوژی مانند محیط زیست (تخریب بیولوژیکی و کنترل زیستی)، صنعتی (سوخت‌های زیستی و غذا) و دارو (آنتی‌بیوتیک، ضدقارچ و مولکول‌های ضد تومور) مناسب ساخته است.

در هر محیط طبیعی، یک نزاع پایدار برای به دست آوردن فضا و منابع غذایی، در بین گونه‌های متفاوت از میکروارگانیسم‌ها دیده می‌شود. در این میان منابع غذایی یک نقش بحرانی را بازی می‌کنند. *آرکیاها* نیز در محیط‌های پیچیده‌ای زندگی می‌کنند و به دلیل رقابت با ارگانیسم‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی دارای سیستم‌های دفاعی چندگانه‌ای هستند که در طول تکامل برای مبارزه با رقبا پدید آمده‌اند. این سیستم‌ها در حال مسابقات تسلیحاتی مداوم می‌باشند، بنابراین جزء سریع‌ترین ژن‌های در حال تحول هستند. با وجود پیشرفت‌های اخیر، استفاده از متابولیت‌های اکسترموفیل به ویژه در برنامه‌های کاربردی پزشکی بسیار محدود است.

هالوآرکیاها اولین عضو خانواده *آرکیا* بودند که تولید یک نوع باکتریوسین که هالوسین نامیده می‌شود، در آن‌ها کشف شد. هالوسین‌ها آنتی‌بیوتیک‌های پروتینی یا پپتیدی هستند که در محیط جهت کشتن یا مهار باکتری‌ها یا سویه‌های حساس *هالوآرکیا*، که در همان محل زندگی می‌کنند، ترشح می‌شود (۹). تولید هالوسین یک ویژگی عمومی *هالوباکترها* است.

هالوسین‌ها، مواد ضد میکروبی پپتیدی یا پروتینی هستند که توسط *هالوآرکیاها* در ریبوزوم سنتز می‌شوند و در رقابت با میکروارگانیسم‌های دیگر بر سر مواد غذایی و زیستگاه اکولوژیکی برای تولید کننده مزیت‌هایی به همراه می‌آورد. این مواد ضد میکروبی معمولاً در شرایط دمایی بالا، غلظت نمک زیاد و شرایط pH قلیایی پایدار هستند. این ویژگی‌ها به آن‌ها توانایی زیادی در زمینه زیست فناوری داده است (۱۰).

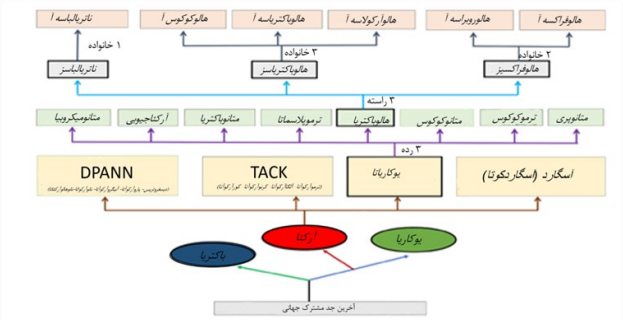
ساختمان ظاهری و مکانیسم عمل آرکئوسین‌ها می‌تواند منشاء بسیاری از رموز کشف نشده باشد. این مقاله بر دانش حاضر از تحقیقات متفاوت بر روی ترکیبات ضد میکروبی *آرکیاها* و اهمیت بیشتر هالوسین‌ها و سولفولوبیسین‌ها که توسط آرکیاهای متعلق به راسته‌ی *هالوباکتریال‌ها* و *سولفولوبال‌ها* تولید می‌شوند، تاکید دارد و به تحلیل جنبه‌های مختلف هالوسین مانند بیوسنتز، مکانیسم اثر بر سلول‌های هدف و پتانسیل کاربردهای بیوتکنولوژی می‌پردازد. این بررسی می‌تواند به عنوان یک راهنما برای شناخت جنبه‌های مختلف هالوسین‌ها در زمینه‌ی اکسترموفیل‌ها و شناسایی مولکول‌های زیستی جدید با خواص منحصر به فرد جهت استفاده در صنایع غذایی و پزشکی باشد.

هالوآرکیا

هالوفیل‌ها در اکوسیستم‌های خیلی شور با غلظت بالای نمک زندگی می‌کنند. این اکوسیستم‌ها مناسب برای بقای باکتری‌های نمک دوست یا تحمل کننده نمک در مقایسه با سایر میکروارگانیسم‌ها است. این میکروارگانیسم‌ها بر اساس میزان بهینه نمک مورد نیاز جهت رشد به سه دسته ملایم (۳-۱٪)، متوسط (۱۵-۳٪) و افراطی (۳۰-۱۵٪) تقسیم می‌شوند.

هالوفیل‌ها در هر سه حوزه باکتری‌ها، *آرکیاها* و *یوکاریاها* یافت می‌شوند. هالوفیل‌های متعلق به قلمرو *آرکیا* به عنوان *هالوآرکیا* نامیده می‌شوند که در تحت شرایط هالوفیلیک یعنی در نمک اشباع یا نزدیک به آن رشد می‌کنند. *هالوآرکیاها* در ابتدا به

عنوان عوامل فساد محصولات نمکی مانند ماهی شور یا پوست‌های دباغی شده در صنعت چرم سازی شناخته شدند. یک نمودار کلی از طبقه بندی جدید *آرکیاها* در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱: نمودار کلی از طبقه بندی جدید *آرکیاها* (۱۰).

هالوآرکیاها تحت طیف گسترده‌ای از استرس زنده می‌مانند، شرایطی مانند استرس اسمزی ناشی از خشک شدن، غلظت بالای نمک، اشعه یونیزان و اشعه ماوراء بنفش، آن‌ها همچنین می‌توانند در گرما یا سرما مناطق با فشار شدید هیدرواستاتیک، و فشار اتمسفر پایین و در ارتفاعات بالا زنده بمانند. *هالوآرکیاها* به سبب تولید مقادیر زیادی رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در غشاء به صورت کلنی‌های رنگی رشد می‌کنند و عامل ایجاد رنگ در محیط‌های فوق شور می‌باشند (۱۱).

هالوآرکیاها اشکال سلولی متنوع میله‌ای، کوکسی، دیسکی و سایر اشکال غیر عادی مانند مثلثی، مربعی، مستطیلی و پلئومورفیک دارند (۱۲). *هالوآرکیاها* وزیکول‌های پر از گاز در داخل سلول تولید می‌کنند که آن‌ها را شناور می‌سازد تا بتوانند در محیط‌های آبی به لایه بالایی برای دسترسی به اکسیژن و نور حرکت کنند. ژنوم آن‌ها حاوی بسیاری از ژن‌های مقاوم به نمک است (۱۳). وجود فسفوگلیسیریدهای مرتبط با اتر در غشای *آرکیا* آن‌ها را از باکتری‌هایی که حاوی استر مرتبط هستند، متفاوت می‌سازد. در غشاء بعضی از *آرکیاها* انواع مختلف لیپیدها مانند گیلیکولیپیدها و فسفولیپیدها گزارش شده است. هالوفیل‌ها با ظرفیت رشد در شرایط حاد متفاوت تحت عنوان پلی‌اکسترموفیل‌ها دسته‌بندی می‌شوند و نام آن‌ها را می‌توان بر این اساس تعیین کرد به عنوان مثال آن‌هایی که در محیط‌های پر نمک و قلیایی زندگی می‌کنند به عنوان هالوآلکالوفیل نامیده می‌شوند (۱۴). آن‌هایی که می‌توانند هتروتروف هوازی و بی‌هوازی باشند، سیترات را کاهش دهند (دینیتریفیکاتورها)، از سولفات به عنوان گیرنده الکترون استفاده کنند و یا متان را به عنوان محصول جانبی متابولیک تولید کنند (متانوژن‌ها) اکثر اعضای هالوفیل هوازی هستند ولی تعداد کمی می‌توانند رشد بی‌هوازی در حضور آرژی‌نین و نیترات به عنوان گیرنده الکترون استفاده کنند (۱۵).

پپتیدهای ضد میکروبی(AMPs)

پپتیدها و پروتین‌های ضد میکروبی در شکل ترکیبات ضد میکروبی فوق العاده در تمام موجودات زنده از حیوانات و گیاهان و میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شوند (۱۶). در طبیعت، میکروب‌ها در رقابت دائمی با یکدیگر جهت کسب منابع غذایی و زیستگاه می‌باشند که این رقابت بسیاری از میکروب‌ها را مجبور به تولید مجموعه‌ای از سلاح‌های شیمیایی از جمله گروهی از پروتین‌ها یا پپتیدهای ضد میکروبی می‌کند (۱۷). ترکیبات آنتی‌بیوتیکی پپتیدی یک بازوی برجسته سیستم‌های دفاعی میکروبی را تشکیل می‌دهند. پپتیدهای سیستم دفاعی را می‌توان به دو نوع اصلی پپتیدهای سنتز شده ریبوزومی (RIPPS) و پپتیدهای سنتز شده غیرریبوزومی (NRP) طبقه‌بندی کرد. پپتیدهای سنتز شده ریبوزومی تنها پپتیدهای ضد میکروبی هستند که به طور تجربی در *آرکیاها* کشف شده‌اند که تحت عنوان آرکئوسین شناخته می‌شوند و تاکنون تنها در چند گونه *هالوباکتر* و *سولفولوبال* شناسایی شده‌اند (۱۸).

باکتریوسین‌ها و آرکئوسین‌ها به وسیله‌ی باکتری‌ها و *آرکیاها* تولید می‌شوند (۱۹). پپتیدهای ضد میکروبی به عنوان عامل قوی رقابت با دیگر ارگانیسم‌ها و تثبیت آشیانه‌ها در محیط‌های متفاوت می‌باشند (۲۰و۲۱). تخمین زده شده است که بین ۳۰ تا ۹۹ درصد *باکتری‌ها* و *آرکیاها* حداقل یک پپتید ضد میکروبی فعال به صورت مستقیم بر ضد گونه‌های نزدیک وابسته به

گونه‌ی تولید کننده (طیف باریک از فعالیت) تولید می‌کنند. اما اخیراً نشان داده شده بعضی فعالیت ضد میکروبی بر علیه جنس، خانواده و حتی قلمرودیگر (طیف وسیع) تولید می‌کنند (۲۲).

میکروارگانیسم‌های تولید کننده پپتیدهای ضد میکروبی نسبت به توکسین‌های خودشان ایمن هستند و این به دلیل مکانیسم‌های متفاوت شامل بیان همزمان پروتین‌های ایمنی‌زا که توکسین را بی‌اثر می‌کنند یا عمل پمپ خروجی که غلظت توکسین تولید شده را در داخل سلول کاهش می‌دهد، می‌باشند (۲۳). بیشتر باکتریوسین‌ها توسط خوشه‌های ژنی با یک یا چند اپرون شامل ژن-های تنظیم کننده، بلوغ، خروج وژن ایمنی‌زایی کد می‌شوند. پپتیدهای ضد میکروبی باکتریایی مکانیسم عمل پیچیده و متفاوتی دارند و در بعضی حالات شامل رسپتورهای اختصاصی هستند (۲٤).

نمونه‌ای از پپتیدهای ضدمیکروبی تحت عنوان پپتیدهای ضد میکروبی کاتیونی شناخته شده‌اند که پپتیدهای کوتاه و باردار مثبت با ساختار آمفی‌پاتیک هستند که بر ضد باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و همچنین قارچ‌ها و تک یاخته‌ها فعالیت می‌کنند (۲۵). صرف‌نظر از مکانیسم عمل خاص آن‌ها، تعامل پپتیدهای ضد میکروبی کاتیونی با غشاء سلولی باکتریایی یک مرحله‌ی کلیدی است که در نهایت منجر به اختلال در یکپارچگی غشاء یا تغییر پتانسیل الکتروشیمیایی آن می‌شود (۲٦). جالب این که بعضی از این پپتیدها بر علیه یوکاریوت‌ها مانند قارچ‌ها نیز علی‌رغم ساختارهای غشاء لیپیدی متفاوت و ساختارهای متمایز دیواره سلولی سمیت نشان می‌دهند (۲۷).

کشف عوامل ضد میکروبی جدید مانند باکتریوسین و ماده بازدارنده شبه باکتریوسین (BLIS) و کشف مکانیسم‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها نه تنها برای استفاده از آن‌ها در روش‌های کنترل زیستی بلکه جهت در کنترل نگه داشتن و جلوگیری از افزایش فرصت برای ایجاد عفونت و مقاومت چندگانه در برابر آنتی‌بیوتیک‌های شناخته شده در محیط‌های بالینی زمینه‌های جالبی هستند. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای با استفاده از باکتری تثبیت کننده نیتروژن *باسیلوس پومیلوس*، مواد بازدارنده شبه باکتریوسین، تولید شده که می‌تواند جهت محافظت از گیاه در برابر سویه‌های رقابتی مضر باکتری‌ها درخاک مفید باشد. این سویه همچنین قادر به تولید هورمون اندول استیک اسید است که جهت تحریک تکثیر سلولی، ازدیاد طول و افزایش جذب مواد معدنی و مغذی توسط گیاه از خاک نقش دارد و از سوی دیگر، اثرات ضد سرطانی و ضدمیکروبی از آن گزارش شده است (۲۸).

دسته‌ای از پپتیدهای ضد میکروبی متعلق به لیپوپپتیدها می‌باشند. لیپوپپتیدها توسط گونه‌های *باسیلوس* تولید می‌شوند و به عنوان کارخانه‌های میکروبی کارآمد و حاوی یک گروه سرپپتیدی حلقوی آب دوست متصل به زنجیر آلکیل آب گریز طولانی برای تشکیل یک ساختار حلقوی غیر ریبوزومی است (۲۹).

لیپوپپتیدها ترکیبات چندکاره با طبیعت آنیونی، خنثی و یا کاتیونی هستند که طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی را دارا می‌باشند. به دلیل طبیعت غیر سمی لیپوپپتیدهای طبیعی و سازگار بودن آن‌ها با محیط زیست، دانشمندان آن‌ها را متابولیت امیدوار کننده‌ای برای استفاده در صنایع و کاربردهای پزشکی در نظر می‌گیرند. یکی از ویژه‌گی‌های این مولکول‌ها کشش سطحی است که آن‌ها را به یک ماده قابل توجه برای افزایش حلالیت داروهای محلول در آب تبدیل می‌کند و باعث افزایش دسترسی این داروها در مایعات دستگاه گوارش و بهبود کارآیی بالینی آن‌ها می‌شود. علاوه بر این، لیپوپپتیدها به خصوص انواع حساس به pH، کاندیدی برای سیستم تحویل دارو هستند (۳۰).

در یک مطالعه نشان داده شده است که لیپوپپتید جدا شده از سویه *باسیلوس مجاوِنسیس* (*Bacillus mojavensis*) خواص ضدمیکروبی قابل توجه و در عین حال، عدم سمیت در رده‌های سلول انسانی نشان داده است.

با توجه به این که مقاومت چند دارویی منجر به افزایش عفونت‌های بیمارستانی شده است که از دغدغه‌های اصلی مراکز کنترل و پیشگیری بیماری هستند (۳۱) و عفونت‌های بیمارستانی اکثراً توسط کوکسی‌های گرم مثبت مانند

استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد می‌شوند، عوامل متعدد بیوفیلم چند لایه در *استافیلوکوکوس اورئوس* باعث مقاومت آن در برابر دفاع ایمنی میزبان و عوامل ضدمیکروبی شده است. به طوری که سلول‌های دارای بیوفیلم هزار برابر به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم‌تر هستند و اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها نمی‌توانند بر پاتوژن‌های باکتریایی تشکیل دهنده بیوفیلم غلبه کنند (۳۲). لیپوپپتیدها به دلیل ساختارشان می‌توانند به عنوان عوامل زیست فعال برای برهم زدن عملکرد و ساختار غشاءهای میکروبی عمل کنند و باعث افزایش نفوذپذیری و تغییر آبگریزی سطح شوند. همچنین بر رشد تاژک‌ها به عنوان خواص ضدچسب تأثیر می‌گذارند و فرایند پراکندگی بیوفیلم را تغییر می‌دهند. بنابراین آن‌ها را می‌توان به عنوان ضدقارچ، ضدویروس، ضدآمیبوسیت، عوامل ضد میکوپلاسما، ضد چسب و ضد تومور استفاده کرد و دارای کاربردهایی در پزشکی، داروسازی، بیوتکنولوژی مواد غذایی و صنعت کشاورزی هستند (۳۳). به عنوان مثال لیپوپپتید همولیتیک جدا شده از باسیلوس هالوتولرانس در یک مطالعه بعد از خالص سازی، خواص ضد میکروبی قابل توجهی بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده است. علاوه بر این، توانایی حذف فلزات کبالت، نیکل و کلسیم را از محیط داراست. بنابراین ازاین لیپوپپتید می‌توان در صنایع مختلف از پزشکی (به عنوان عوامل ضد میکروبی و ضد بیوفیلم یا به عنوان هیدروژل پلی آکریل آمید برای التیام زخم) و همچنین برای رفع آلودگی فلزات از محیط زیست استفاده کرد (۳٤).

باکتری‌های نمک دوست به دلیل وجود آنزیم‌های مقاوم به نمک و متابولیت‌های جدید در صنعت پزشکی اهمیت وافری دارند و قادرند ترکیبات هوپانوئید، تری‌ترپنوئیدی پنج حلقه‌ای با خاصیت ضدمیکروبی تولید کنند. به عنوان مثال یک پپتید تولید شده توسط *هالوباسیلوس کاواجنسیس* (*Halobacillus kavajensis*) در مهار فاکتورهای ویرولانس *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثر است، که به این ترتیب از تشکیل بیوفیلم توسط این عوامل و بیماریزایی آن‌ها جلوگیری می‌کند. در حالی که اثر سمی بر سلول‌های خونی انسان ندارد (۳۵).

در یک مطالعه تحقیقاتی، ترکیبات پپتیدی تولید شده از *باسیلوس پومیلوس* ZED17 (*B. pumilus* ZED17) و *باسیلوس پومیلوس* DFAR8 (*B. pumilus* DFAR8) علاوه بر اثر ضد قارچی بالا از جوانه‌زنی بذر علف‌های هرز نیز جلوگیری می‌کند. بنابراین می‌توان آن‌ها را به عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی مناسب نیز در نظر گرفت (۳٦).

تعریف هالوسین

اکوسیستم‌های میکروبی در محیط‌های شور و مخصوصاً فوق شور حاوی ترکیبات میکروبی پیچیده‌ای هستند که توسط آن با میکروب‌های متفاوت برای به دست آوردن غذا و زیستگاه رقابت می‌کنند (۹). دو نوع رقابت وجود دارد اولی شامل مصرف منابع است که در این نوع رقابت میکروب‌ها یا از مواد مغذی محیط زیست استفاده می‌کنند و با محدود کردن دسترسی رقبا به این منابع رقابت می‌کنند و یا با ترشح مولکول‌هایی که مواد مغذی را جمع‌آوری می‌کنند که هر دو این فرایندها منجر به حذف رقابتی و رشد یک سویه نسبت به سایرین می‌شود. همزیستی سویه‌ها در این محیط به نحوه تعامل آن‌ها بستگی دارد و با کمترین مصرف انرژی از نظر اقتصادی به حیات خود ادامه می‌دهند (۱۷). نوع دوم رویکرد رقابت مستقیم از طریق تولید مولکول‌های بیواکتیو متنوع مانند پپتیدهای ضدمیکروبی و طیف وسیعی از سموم غیر پروتینی و مواد شیمیایی معدنی و آلی مانند پراکسید ئیدروژن و اسیدهای آلی است (۱۷).

آرکئوسین نام یک گروه جدید از آنتی‌بیوتیک‌های مفید مشتق از میکروارگانیسم‌های *آرکیا* می‌باشد. آرکئوسین‌ها پپتیدها یا پروتین‌های ضدمیکروبی هستند که به طریق سنتز ریبوزومی به وسیله‌ی *آرکیا* متعلق به هالو باکترها وسولفولوبال‌ها تولید می‌شوند (۳۷).

هالوسین‌ها نوعی از باکتریوسین‌ها هستند که توسط *آرکیای* هالوفیل تولید می‌شوند ونوعی آرکئوسین می‌باشند که از راه‌هایی همانند دیگر باکتریوسین‌ها تولید می‌شوند و به صورت پروتین‌های بزرگ و پلی‌پپتیدهای کوچک مشاهده می‌شوند. تولید هالوسین به چند دلیل از جمله میکروارگانیسم مولد که

آرکیا وعموماً اکسترموفیل‌ها هستند، جالب توجه است. زندگی در شرایط اکستریم تحت شرایطی که به نظر نمی‌آید، رفتار آنتاگونیست نیاز باشد. هالوسین‌ها آنتی‌بیوتیک‌های پروتینی یا پپتیدی هستند که در محیط جهت کشتن یا مهار سویه‌های حساس *هالوآرکیا*، که در همان زیستگاه زندگی می‌کنند، ترشح می‌شود. تولید این پروتین‌های ضد میکروبی در *هالوآرکیاهای* میله‌ای شکل تقریباً عمومی است. درصد فراوانی تولید آرکئوسین‌ها از اعضاء این خانواده ناشناخته است زیرا هیچ کس آن‌ها را جستجو نکرده است. کشف آرکئوسین‌های جدید محور یک جمع‌آوری و ترویج ارگانیسم‌های *آرکیایی* از محیط است (۳۸).

مکانیسم ژنتیکی، تولید و مکانیسم عمل هالوسین‌ها مطالعه شده است، اما جامع نیست. همچنین اکولوژی هالوسین‌ها به خوبی مشخص شده است. زندگی هالوفیل‌ها در چنین غلظت‌های یونی فوق‌العاده به علت حضور یک سری محلول‌های غیر معمول و تطبیق با توجه به گرادیانت انرژی آن‌ها ممکن شده است. توانایی استفاده از هالوسین‌ها انگیزه‌ای برای مطالعه این گرادیانت‌ها وشناخت آن‌ها فراهم می‌کند. تولید پپتیدهای ضد میکروبی اغلب از طریق سنجش حد نصاب تنظیم می‌شود. مکانیزمی که نوعی ارتباط میکروبی است و بر مولکول‌های سیگنالی تولید شده از سلول‌هایی که بیان ژن را تنظیم می‌کنند تکیه دارد (۲۹).

از نظر دامنه‌ی عمل، هالوسین‌ها بر روی اعضای خانواده‌ی *هالوباکتریاسه* اثر می‌کنند و دامنه‌ی وسیع و اثر محدود آن‌ها هم در محدوده‌ی همین خانواده تعریف می‌شود. البته مواردی از هالوسین‌ها هم که بر روی گروه‌های دیگر اثر می‌گذارند، یافت شده است (۳۰).

گزارش شده است که پروتین‌های تولید شده توسط هالوفیل‌ها و *هالوآرکیاها* حاوی مقادیر نسبتاً کمی از لیزین و اسیدهای آبگریز و محتوای بالایی از باقیمانده‌های با بار منفی مانند آسپارتات و گلوتامات است که منجر به کاهش سطح قابل دسترسی حلال به پروتین است، این مکانیسم اصلی هالوآپتاسیون است (۳۹).

بیشتر پروتین‌ها و آنزیم‌های هالوآرکیاها در غلظت نمک بالا (۳۰- ۱۰٪) و دماهای بالاتر از ۱۰۰ درجه سلسیوس و شرایط کم آبی فعال باقی می‌مانند. در حالی که همتایان باکتریایی آن‌ها در این شرایط دناتوره و غیر فعال می‌شوند (۴۰). این ویژگی‌های منحصر به فرد آن‌ها را برای موارد مختلف کاربردهای مبتنی بر نمک، به ویژه در شرایط کم آبی مناسب می‌سازد. پروتین‌های *هالوآرکیاها* از جمله هالوسین ابزار عالی برای مطالعه‌ی این پارامترها هستند که ثبات پروتین را کنترل می‌کنند.

بهینه سازی تولید هالوسین یک گام ضروری برای به دست آوردن هالوسین در مقادیر کافی است. به علاوه چندین مرحله ساز و کار خالص سازی بعدی نیاز است. بازده تولید هالوسین اغلب به تعیین مقدار مناسب و بعلاوه چندین قدم مراحل خالص سازی بعدی نیاز دارد. *آرکیاها* اغلب حساس می‌باشند و به دلیل ضرورت حضور مقدار زیادی نمک در نمونه‌ها و اتکا فعالیت آنتی‌میکروبیال به غلظت نمک به زحمت زیاد نیاز دارند (۱۶).

همه *آرکیاها* به یک هالوسین خاص حساس نیستند. هالوسین‌ها معمولاً ارگانیسم اندیکاتور را از طریق تورم سلولی و به دنبال آن لیز سلولی از بین می‌برند (۴۱). هالوسین‌ها به طور کلی باعث تشکیل منافذ با دپلاریزاسیون از غشاء سلولی، تجزیه هسته یا فعالیت حامل‌های آنیونی، مهار رشد اسپور یا مهار آنزیم می‌شوند. مکانیسم عمل هالوسین ممکن است شامل اصلاح نفوذپذیری سلولی یا مهار آنتی‌پورتر Na^+/H^+ و پروتون باشد (شکل ۲). فعالیت بعضی از هالوسین‌ها به غلظت نمک وابسته است و اگر غلظت نمک کمتر از سطح حداقل شود فعالیت خود را از دست می‌دهد (۴۲).

به طور کلی گزارشات مهار هالوسین با استفاده از سوپرناتانت کشت باید با شدت احتیاط در نظرگرفته شود. زیرا تولید هالوسین خیلی به شرایط محیطی (محیط – حرارت – همزن)، سویه‌ی تولید کننده و فاز رشد بستگی دارد. در حقیقت تولید ترکیبات ضدمیکروبی به وسیله‌ی باکتری‌های شناخته شده توسط مکانیسم‌های کنترلی پیچیده تنظیم می‌شود (۴۳) و

احتمالاً این مکانیسم‌ها برای *آرکیاها* نیز به طور مشابه قابل استفاده است.

شکل ۲: یک مدل فرضی سه مرحله‌ای که مکانیسم عمل هالوسین‌ها را نشان می‌دهد (۱۰).

به طور کلی گزارشات مهار هالوسین با استفاده از سوپرناتانت کشت باید با شدت احتیاط در نظرگرفته شود. زیرا تولید هالوسین خیلی به شرایط محیطی (محیط – حرارت – همزن)، سویه‌ی تولید کننده و فاز رشد بستگی دارد. در حقیقت تولید ترکیبات ضدمیکروبی به وسیله‌ی باکتری‌های شناخته شده توسط مکانیسم‌های کنترلی پیچیده تنظیم می‌شود (۴۳) و احتمالاً این مکانیسم‌ها برای *آرکیاها* نیز به طور مشابه قابل استفاده است.

بنابراین، جهت اطمینان، طیف مهاری هالوسین باید فقط با مقدار مشخص از پپتید ضد میکروبی خالص تعیین شود. اما این مورد به دلیل وجود تکنیک‌های مشکل برای کشت *آرکیا* و خالص سازی ترکیبات فعال تولید شده اغلب اتفاق نمی‌افتد. بهینه سازی بازده تولید پپتید ضدمیکروبی اغلب به تولید مقدار مناسب و بعلاوه چندین قدم مراحل خالص سازی بعدی نیاز دارد. *آرکیاها* اغلب حساس می‌باشند و به دلیل ضرورت حضور مقدار زیادی نمک در محیط و اتکاء فعالیت ضد میکروبی به غلظت نمک، تولید هالوسین خالص به زحمت زیاد نیاز دارد.

دسته‌بندی هالوسین‌ها

بر اساس وزن ملکولی، هالوسین‌ها را می‌توان به گروه میکروهالوسین‌ها و هالوسین‌های با وزن ملکولی بیشتر تقسیم کرد. میکرو هالوسین‌ها: وزن مولکول حدود ۵-٤ کیلو دالتون دارند، اما با اندازه‌های کوچک‌تر هم مشاهده شده‌اند. که از جمله آن‌ها می‌توان به هالوسین‌های C8, R1, S8,A4 اشاره کرد. این در حالی است که وزن مولکولی گروه دوم به طور تقریبی حدود ۳۵ کیلو دالتون است. هالوسین‌های با وزن مولکولی بیشتر: این گروه ویژگی‌های پروتینی آرکی‌های نمک دوست را بیشتر نشان می‌دهند. از میان این ترکیبات، جزئیات H7,H6,H4 ,H1 بیشتر مشخص شده و پژوهش‌های بیشتری روی آن‌ها صورت گرفته است. هر چهار هالوسین به وسیله‌ی اعضای جنس *هالوفراکس* تولید می‌شوند.

دو تا از هالوسین‌ها به عنوان هالوسین‌های پروتینی طبقه‌بندی می‌شوند: هالوسین H1 و هالوسین H4

در ادامه به بررسی مختصر هریک از این پپتیدها می‌پردازیم:

هالوسین H4

از میان هالوسین‌ها با وزن مولکولی بالا، هالوسین H4 اولین بار کشف شد. هالوسین H4 از سویه (*Haloferax mediterranei* ATCC33500) R4 از یک حوضچه‌ی نمک اسپانیایی در آلیکانته اسپانیا خالص شده است (۳۸). ژن هالوسین H4 روی مگاپلاسمید PHM300 قرار گرفته و درسویه *هالوفراکس مدیترانه‌ای* R4 تولید هالوسین با حضور چندین مگاپلاسمید نشان داده شده است به طوری که فقدان PHM300 و جهش حذفی آن در*هالو فراکس مدیترانه‌ای* باعث می‌شود تا هالوسین H4 توانایی ممانعت از رشد *هالوباکتر سالیناروم Hbt.salinarum* و *هالوفراکس ولشای Hfx.volcanii* را از دست بدهد ژن هالوسین H4 یک پلی پپتید منفرد با سکوانس خیلی بزرگ‌تر از هالوسین H4 راکد می‌کند (۱۸).

هالوسین H1

هالوسین H1 از *هالو فراکس مدیترانه‌ای* سویه M2a از استخرهای نمک جدا شده است (٤٤). هالوسین H1 یک پلی‌پپتید تقریباً ۳۱ کیلو دالتونی است که با الکتروفورز ژل سدیم دودسیل سولفات پلی‌اکریل‌آمید (SDS-PAGE) تشخیص

داده شده است. سکوانس اسید آمینه‌ی هالوسین و سکوانس نوکلئوتید آن تعیین نشده است. فعالیت ضدباکتری هالوسین H1 فقط بر علیه غشاء هالوباکترها در نظر گرفته شده است. همانند هالوسین H4 فعالیت ضد باکتری هالوسین H1 به دما و نمک بستگی دارد. فعالیت آن در دمای ۵۳ درجه سلسیوس پایدار است و نیازمند غلظت کلرید سدیم بالاتر از یک مولار است (۴۵).

هالوسین H6

هالوسین H6 به وسیله‌ی *هالوفراکس جیبونسی (Hfx Gibbonsii Ma2)* جدا شده از یک گودال نمکی در اسپانیا به دست آمده است. هالوسین H6 به وسیله‌ی آنالیز SDS-PAGE یک پروتین ۳۲ کیلو دالتونی آشکار می‌شود. اما سکوانس اسیدآمینه آن مشخص نشده است. همانند هالوسین H4 ماکزیمم فعالیت هالوسین در هنگام انتقال از فاز لگاریتمی به فاز سکون مشخص شده است. علیرغم تفاوت مشخصات، هالوسین H6 مشابه آنچه در مورد هالوسین H4 مشاهده شده روی حجم داخلی سلول‌ها اما با شدت بیشتر اثر می‌گذارد (۴۶). تورم سلولی و لیز سلول‌ها نشان می‌دهد که غشاء سلولی می‌تواند هدف مکانیسم عمل این هالوسین باشد. مشخص شده که هدف اولیه‌ی هالوسین H6 مهار نافلان ناهمسوی Na^+/H^+ (NHE) واسطه‌های غیر مستقیم پمپ خروجی Na^+ (efflux) و پمپ ورودی H^+ (influx) می‌باشند (۴۷). این پروتین غشایی کنترل pH سیتوزولی و غلظت Na^+ داخل سلولی را در ارگانیسم‌های زنده بر عهده دارد که این عمل برای *آرکیای* نمک دوست اهمیت وافری دارد و تخریب این ناقلان منجر به صدمه شدید به سلول هدف می‌شود (۴۸). به طور شگفت انگیزی یک مطالعه نشان داد که هالوسین H6 می‌تواند از NHE یوکاریوتیک ممانعت کند، زیرا تشابه کاربردی در ساختمان این پروتین‌ها در دودمان *آرکیا* و یوکاریوتیک وجود دارد.

هالوسین H7

آنچه به عنوان هالوسین H7 شناخته می‌شود، در حقیقت همان هالوسین H6 است که با استفاده از سویه‌ای از *هالوفراکس جیبسونی (Hfx. Gibbonsii* Ma2.39) با تولید زیاد هالوسین، از *هالوفراکس جیبسونی (Hfx. Gibbonsii* Alicante SPH7) تولید می‌شود (۴۶).

میکرو هالوسین S8

هالوسین S8 اولین هالوسین با وزن مولکولی پائین است که به خوبی شناخته شده است. از *هالوآرکیای* ناشناخته‌ی سویه S8a از دریاچه بزرگ نمکی درآمریکا جداسازی و خالص شده است. زمان تولید اواخر فاز لگاریتمی و اوایل فاز سکون می‌باشد (۴۱).

میکروهالوسین R1

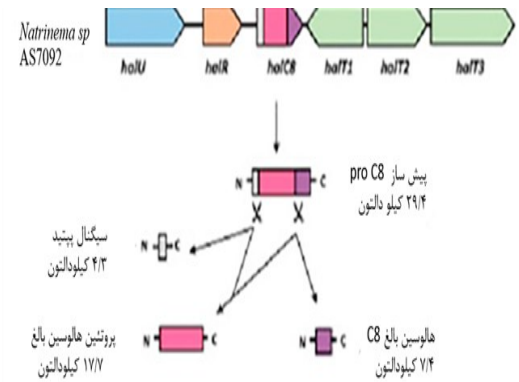
میکروهالوسین R1 به وسیله‌ی *هالوباکتریوم سالیناروم (Hbt. Salinarum* N101) جدا شده ازمنطقه‌ای در مکزیک، تولید شده است. همچنین تولید آن توسط دیگر *هالوباکترها* نیز مشاهده شده است. وزن مولکولی این پپتید ۶/۲ کیلودالتون و از ۳۸ اسیدآمینه تشکیل شده است و توالی آن ۶۸ درصد با هالوسین S8 مشابه می‌باشد. فعالیت آن در سوپرناتانت کشت و در انتقال به فاز سکون رشد تعیین شده است (۴۹). فعالیت R1 به نمک‌زدایی، pH اسیدی و پاپایین، تریپسین و ترمولیزین مقاوم است. اما به پروتئازk، پروناز و الاستاز حساس است (۵۰). فعالیت R1 به ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ساعت مقاوم است اما بعد از نگهداری در ۹۳ درجه سلسیوس برای مدت ۵ دقیقه غیر فعال می‌شود.

میکروهالوسین C8

هالوسین C8 یک هالوسین ۷ کیلودالتونی است که برای اولین بار از *هالوآرکیا ناترینوم Natrinema sp* AS7092 جدا شده از یک دریاچه‌ی نمک در چین خالص شده است. جالب این که گزارش شده که هالوسین C8 توسط دیگر سویه‌های متعلق به هالوباکتریال‌ها هم تولید می‌شود (۵۱)، که بعضی از آن‌ها ترکیبات ضدمیکروبی تولید می‌کنند که به تیمار با پاپائین

حساس می‌باشند (۵۲). بیان هالوسین C8 در حین انتقال از فاز لگاریتمی به فاز سکون رشد شروع شده و در طول فاز سکون پایدار باقی می‌ماند که مرتبط با فعالیت ضد میکروبی پپتید می‌باشد (۵۳). تحقیقات نشان داده‌اند که یک پروتین ایمنی‌زا برای حفاظت در مقابل پپتید ضد میکروبی شبیه به آنچه در باکتریوسین‌ها دیده می‌شود وجود دارد (۵٤).

همچنان که در شکل ۳ نشان داده شده است، پروتین Hall یک نقش ایمنی‌زایی را به وسیله‌ی اتصال مستقیم به یک هلیکس – لوپ– هلیکس N– ترمینال با مونومرهای چندتایی هالوسین C8 ایفا می‌کند، به این ترتیب کمپلکس‌های بزرگ و جدای از هم هالوسین C8 شکل می‌گیرند (۵۵) و این مورد مکانیسم ایمنی‌زایی پروتین محافظ تولید شده توسط *لاکتوکوکوس لاکتیس* را در مقابل نایسین یادآوری می‌کند (۵٦).



شکل ۳: هالوسین C8، لوکوس ژنتیکی ژن *halC8* که در بیوسنتز هالوسین C8 و پروتین ایمنی‌زای Hall دخالت می‌کند (۱۸).

میکروهالوسین A4

وزن ملکولی هالوسین A4 کمتر از ۵ کیلو دالتون است و دامنه‌ی اثر گسترده‌ای دارد، ترکیب مقاومی بوده و از این نظر مورد توجه است که دامنه‌ی اثر آن به اعضای خانواده محدود نمی‌شود، بلکه از رشد *سولفولوبوس سولفوتریکوس (Sulfolobus solfataricus)* از آرکی‌های شاخه کرنه‌آرکیا نیز جلوگیری می‌کند. هالوسین A4 از گونه های هالوآرکیای ناشناخته جدا شده است.

فعالیت هالوسین A4 وابسته به نمک و مقاوم به گرما است، اگر چه در دمای جوش تا یک هفته مقاوم است به این ترتیب هالوسین A4 و هالوسین C8 وزن مولکولی و الگوی پایداری مشابه دارند (۵۷).

هالوسین Sech7a

هالوسین Sech7a از *هالوفراکس مدیترانه‌ای* (*Hfx. mediterranei* Sech7a) (AY823953) جدا شده از یک حوضچه نمک در اسلوونی به دست آمده است. اطلاعات به دست آمده از طیف سنجی جرمی نشان داده که هالوسین Sech7a جرم مولکولی برابر ۱۰/۷ کیلودالتون دارد که با تخمین SDS- PAGE مطابقت دارد (۵۸).

فعالیت ضدمیکروبی مایع رویی هالوسین Sech7a در برابر سویه *هالوباکتر سالیناروم* (*Hbt. Salinarum* NRC 817) نشان داده شده است. فعالیت ضدمیکروبی سلول‌های *هالوفراکس مدیترانه‌ای* (*Hfx. mediterranei* Sech7) در مرحله لگاریتمی رشد شروع و در هنگام ورود به فاز سکون به حداکثر خود می‌رسد (۵۸).

هالوسین ASDL78

هالوسین ASDL78از سویه *هالوآرکئوم اسیدوفیلوم* (*Halarchaeum acidiphilum* ASDL78) جدا شده از آبشار نمکی کویر لوت ایران به دست آمده است. اطلاعات به دست آمده از اولترا فیلتراسیون و کروماتوگرافی SDS- PAGE نشان داده که هالوسین ASDL78 جرم مولکولی برابر ۱۷ کیلودالتون دارد (٤۲).

طیف فعالیت ضدمیکروبی هالوسین ASDL78 وسیع بوده و باعث از بین رفتن سویه‌های *Staphylococcus aureus* PTCC 1112، *Escherichia coli* PTCC 1398 و *Bacillus subtilis* PTCC 1254 و *Streptococcus mutans* PTCC 1683، *Pseudomonas aeruginosa* 1565 PTCC و *Halobacterium salinarium* PTCC 1685 شده است (٤۲).

هالوسین KPS1

هالوسین KPS1 از سویه *هالوفراکس ولشای*

(*Haloferax volcanii* KPSl) از یک گودال نمکی در هند جدا شده است و فعالیت ضدمیکروبی آن وابسته به نمک، مقاوم به حرارت تا ۸۰ درجه سلسیوس و در محدوده pH بین ۳ تا ۹ پایدار می‌باشد. اما به تریپسین و پروتئیناز K حساس است (۵۹).

طیف وسیع ضدمیکروبی برعلیه سویه‌های *Halobacter sodomense* S2; *Escherichia coli* MTCC 1671 و *Streptococcus mutans* MTCC 896 و *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 6538 و *Bacillus subtilis* MTCC1134 and *Staphylococcus aureus* MTCC 916 با هالوسین KPS1 گزارش شده است (۱۰).

هالوسین SH10

هالوسین SH10 از سویه *ناترینما* (*Natrinema sp* BTSH10) خالص شده که یک جنس نسبتاً جدید از *آرکیا* باکتری‌هایی است که تاکنون کمتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند و به عنوان یک فلور بومی گودال خیلی شور در مناطق ساحلی جنوب هند که محل برداشت نمک تجاری مورد مصرف انسانی است، شناخته شده است (۶۰).

تولید هالوسین SH10 در طول فاز سکون رشد افزایش یافته است. اگر چه سطح قابل توجهی از هالوسین را در اواخر فاز لگاریتمی رشد می‌توان مشاهده کرد. فعالیت ضدمیکروبی هالوسین SH10 بر ضد سویه *هالوروبروم* (*Halorubrum sp* BTSH03) مشاهده شده است. سلول‌های در معرض با هالوسین دچار تغییرات مرفولوژیکی، تورم و لیز سلولی می‌شوند (۶۰).

هالوسین HA1

هالوسین HA1 از سویه‌ی *هالوفراکس لارسنی* (*Haloferax larsenii* HA1) جدا شده از مناطق نمکی هندوستان به دست آمده است. تولید بهینه این هالوسین در اواسط فاز رشد لگاریتمی است و بعد به سرعت کاهش می‌یابد. اطلاعات به دست آمده از خالص سازی با اولترافیلتراسیون و کروماتوگرافی وزن مولکولی ۱۴ را نشان می‌دهد (۶۱).

هالوسین HA3

هالوسین HA3 از سویه *هالوفراکس لارسنی* (NCIM5678) (*Haloferax larsenii* HA3) جدا شده از مناطق نمکی هندوستان به دست آمده است. تولید بهینه این هالوسین در اواسط فاز رشد لگاریتمی است. اطلاعات به دست آمده از خالص سازی با اولترافیلتراسیون و کروماتوگرافی وزن مولکولی ۱۳ را نشان می‌دهد (۶۲).

هالوسین HA4

هالوسین HA4 از سویه *هالوفراکس لارسنی* (*Haloferax larsenii* HA4) به دست آمده است. اطلاعات به دست آمده از خالص سازی با اولترافیلتراسیون و کروماتوگرافی وزن مولکولی ۱۴ را نشان می‌دهد. سکوانس توالی N ترمینال آن با هیچ هالوسینی همسانی نداشته به همین دلیل به عنوان هالوسین جدید معرفی شده است (۱۰).

ماهیت ضدمیکروبی هالوسین HA4 با از دست دادن کامل تعداد زنده سویه شاخص (*Hfx. larsenii* HA10) مشخص شده است. تغییر در طیف FTIR سلول‌های تیمار شده با هالوسین نشان می‌دهد که هالوسین HA4 بر روی غشاء سلولی و اسیدهای نوکلئیک سلول‌های هدف اثر می‌گذارد (۱۰).

هالوسین H17

هالوسین H17 از سویه *هالوفراکس الکساندرینوس* (*Haloferax alexandrinus* SWI17) خالص گردیده است. تولید بهینه این هالوسین در اواسط فاز رشد لگاریتمی است و بعد به سرعت کاهش می‌یابد. وزن مولکولی بین ۴۰-۳۰ را نشان داده و خواص ضدمیکروبی آن ناشناخته است. تنها خاصیت ضدمیکروبی آن بر ضد سویه *هالوباکتر سالیناروم* *Hbt. salinarum* DSM3754 نشان داده شده است (۶۳).

خلاصه‌ای از هالوسین‌ها شناخته شده در یک نگاه در جدول ۱ آورده شده است:

جدول ۱: هالوسین‌ها و خصوصیات بیوشیمیایی آن‌ها در یک نگاه.

ردیف	هالوسین	وزن مولکولی	سویه تولید کننده	مرحله بهینه تولید	سویه هدف ضدمیکروبی	خواص بیوشیمیایی			منابع
						دما	pH	وابستگی به نمک	
۱	H1	۳۱	*Haloferax mediterranei* M2a (or Xai3)	اواسط مرحله لگاریتمی	Not Specific	۵۰> °C,	تعیین نشده	وابسته	Platas et al. (2002);
۲	H2	تعیین نشده	Haloarchaeon Gla2.2	تعیین نشده	Not Specific	تعیین نشده	تعیین نشده	تعیین نشده	Rodriguez-Valera et al. (1982)
۳	H3	تعیین نشده	Haloarchaeon Gaa12	تعیین نشده	Not Specific	تعیین نشده	تعیین نشده	تعیین نشده	Rodriguez-Valera et al. (1982)
٤	H4	۹/۳٤	*H. mediterranei* R4 (D11107)	شروع مرحله سکون	*Halobacterium halobium* CCM2090	٦۰> °C,	تعیین نشده	وابسته	Meseguer and Rodriguez-Valera (1986);
٥	H5	تعیین نشده	Haloarchaeon Ma2.20	تعیین نشده	Not Specific	تعیین نشده	تعیین نشده	تعیین نشده	Rodriguez-Valera et al. (1982)
٦	H6/H7	۳۲	*Haloferax gibbonsii* Ma2.39	شروع مرحله سکون	*H. halobium* NRC 817	۹۰> °C,	تعیین نشده	غیر وابسته	Meseguer et al. (1995); Torreblanca et al. (1989)
۷	H17	۳۲	*H. alexandrinus* SWI17	اواسط مرحله لگاریتمی	*H. salinarum* DSM3754	تعیین نشده	تعیین نشده	تعیین نشده	Mazguene et al. (2018)
۸	A4	٤۳٥/۷	Strain TuA4	تعیین نشده	Not Specific	۱۰۰< °C,	تعیین نشده	غیر وابسته	Haseltine et al. (2001)
۹	C8	۳/٦	*Halobacterium* strain AS7092 (AY899297)	شروع مرحله سکون	*Halorubrum saccharovorum* ATCC29252	۱۰۰< °C,	تعیین نشده	غیر وابسته	Li et al. (2003)
۱۰	R1	۸/۳	*Halobacterium* strain GN101	شروع مرحله سکون	Not specific	۹۳> °C,	تعیین نشده	غیر وابسته	Rdest and Sturm (1987)
۱۱	S8	٥۸/۳	Haloarchaeal strain S8a	مرحله سکون	*H. salinarum* NRC817	۱۰۰< °C,	تعیین نشده	غیر وابسته	Price and Shand (2000)
۱۲	Sech7a	۷/۱۰	*H. mediterranei* Sech7a (AY823953)	شروع مرحله سکون	*H. salinarum* NRC 817	۸۰> °C,	۸- ۲	وابسته	Besse et al. (2015); Paˇsi´c et al. (2008)
۱۳	KPS1	تعیین نشده	*H. volcanii* KPSl	در طول مرحله سکون	*Halobacterium sodomense*	۸۰> °C,	۹- ۳	وابسته	Kavitha et al. (2011)
۱٤	SH10	۲۰	*Natrinema* sp. BTSH10	شروع مرحله سکون	*Halorubrum* sp. BTSH03	٥۰> °C,	تعیین نشده	تعیین نشده	Karthikeyan et al. (2013)
۱٥	ASDL78	۱۷	*Halarchaeum acidiphilum* ASDL78	شروع مرحله سکون	*Halobacterium salinarium PTCC 1685*	۸٥> °C	۸- ۲	غیر وابسته	Abbasi and Emtiazi, 2020
۱٦	HA1	۱٤	*H. larsenii* HAl	اواسط مرحله لگاریتمی	*H. larsenii* HA10	۱۰۰< °C,	۱۲- ٤	غیر وابسته	Kumar and Tiwari (2017b);
۱۷	HA3	۱۳	*H. larsenii* HA3 (NCIM5678)	اواسط مرحله لگاریتمی	*H. larsenii* HA10	۱۰۰< °C,	۱۰- ۲	غیر وابسته	Kumar and Tiwari (2017a)
۱۸	HA4	۱٤	*H. larsenii* HA4	تعیین نشده	*H. larsenii* HA10	۱۰۰< °C,	۱۰- ۲	غیر وابسته	Kaur and Tiwari 2021
۱۹	G1	تعیین نشده	*Halobacterium* strain GRB	تعیین نشده	Not Specific	تعیین نشده	تعیین نشده	تعیین نشده	Soppa and Oesterhelt (1989)

سولفولوبیسین

ترکیبات پروتینی ضدمیکروبی دیگری از *آرکیاها* جدا شده است که در محیط‌های کاملا متفاوتی زندگی می‌کنند. اولین محصولات تولید شده از این ترکیبات ضدمیکروبی پروتینی، سولفولوبیسین نامیده شدند. به نظر می‌رسد فعالیت ضد میکروبی هم با سلول‌ها در فاز سکون رشد وهم با سوپرناتانت بدون سلول در ارتباط است، اما بیشتر فعالیت با سلول‌ها مرتبط است. مطالعات اخیر دخالت وزیکول‌ها را در ارتباط سلول به سلول نشان داده‌اند، چنان‌که آنان می‌توانند انتقال دهنده‌ی عوامل کواروم سنسینگ، توکسین‌ها و فاکتورهای پاتوژنیسیتی باشند.

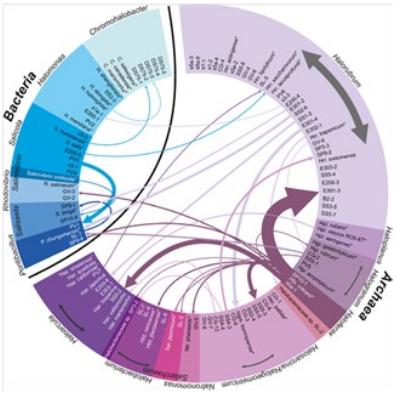
ژن‌های کد کننده سولفولوبیسین *sulA* و *sulB* به صورت یک اپرون سازمان یافته‌اند و با بالاترین بیان در اواسط فاز لگاریتمی نسخه‌برداری می‌شوند که این مورد توسط آزمایشات qPCR نشان داده شده است (٦٤). *sulA* و *sulB* هر دو سیگنال‌های ترشحی نشان می‌دهند و اکثریت فعالیت سولفولوبیسین‌ها به نظر می‌رسد در ارتباط با وزیکول‌های غشایی باشد. ممکن است بسته‌بندی سولفولوبیسین داخل وزیکول‌های غشایی به دلیل تحت واحد *sulA* باشد (٦٥). مکانیسم اتصال وزیکول‌های غشایی به فرایندهای ترشحی و شکل عمل سولفولوبیسین‌ها هنوز شناخته نشده است و این نکته جالب توجهی برای مطالعات آینده است. فعالیت ضدمیکروبی تا دمای ۷۸ درجه سلسیوس باقی است و به تیمار با SDS و ذخیره طولانی مدت و طیف pH از ۳ تا ۷ پایدار است (٦٥).

نقش هالوسین در جوامع میکروبی

نقش آرکئوسین‌ها و باکتریوسین‌ها در جوامع میکروبی به صورت جدال آمیز باقی مانده است (٦٦). یک مطالعه نشان داد که رقابت بین جنس‌های مختلف در بین انواع متفاوت میکروارگانیسم‌های هالوفیلیک در دریاچه‌های نمک کریستالی با منشاء جغرافیایی متفاوت و در فصول متفاوت وجود دارد.

نشان داه شده که از میان ٦٠ گونه *آرکیا*، ۲۷ تا از آن‌ها تولیدکننده هالوسین هستند. *هالوروبروم* و *هالوفراکس* به عنوان جنس‌های برتر تولید کننده هالوسین شناخته شده‌اند و ممانعت متقاطع به طور منظم بین اعضای جنس هالوروبروم و هالوفراکس و هالوگرانوم برعلیه اعضای جنس *پانتی باسیلوس* (*Pontibacillus*)، *رودو ویبریو* (*Rhodovibrio*)، *سالیساتا* (*Salisaeta*) و *هالوموناس* (*Halomonas*) در تمام جداشده‌های از نمونه‌های هایپرسالین مشاهده می‌شود (شکل ٤). هالوسین‌ها همانند باکتریوسین‌ها به عنوان سلاح میکروارگانیسم‌های غالب زیستگاه به منظور بقاء در محیط و برآورده شدن نیازهای غذایی‌شان عمل می‌کنند. به نظر می‌رسد که برای باکتری‌ها و احتمالاً برای *آرکیاها* پپتیدهای ضدمیکروبی (AMPs) نه فقط به عنوان یک کشنده مهلک برای دشمنان در محل‌های طبیعی عمل می‌کنند بلکه نقش مهمی در جوامع بین سلول‌ها و ایجاد پیوندهای مفید در جمعیت‌های میکروبی بازی می‌کنند (٦٧).

مطالعات خیلی کمی در مورد کواروم سنسینگ در باکتری‌ها انجام شده است. اولین بار با کشف نوع مولکول‌ها و مکانیسم‌هایی که زندگی در محیط‌های اکستریم را برای آن‌ها ممکن ساخته است، شروع شد (٦٨) و مشاهده شد آرکئوسین‌ها می‌توانند در این فرایندهای اجتماعی داخل و خارج دودمانی همچنان که در باکتری‌ها نشان داده شده است همکاری کنند (٦٩).



شکل ٤: فعالیت هالوسین در بین جنس‌ها و درون جنس‌ها تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی توالی ژن 16SrRNA از ۹۰ سویه مورد استفاده در یک مطالعه بر اساس حداکثر احتمال (١٨).

از آن جا که *آرکی‌های* خانواده‌ی *هالوباکتریاسه* اغلب در محیط‌های فوق شور با غلظت کم مواد غذایی رشد می‌کنند، به

نظر می‌رسد رقابت بر سر غذا و ادامه‌ی حیات به بهای لیز سلول‌های دیگر برای به دست آوردن غذا، دلیل قانع کننده‌ای برای تولید هالوسین‌ها باشد. در مجموع می‌توان گفت نقش اکولوژیک هالوسین‌ها و اهمیت آن‌ها در اکوسیستم هنوز به طور کامل مشخص نشده است. یک کاربرد آن‌ها در بستر جامد محیط‌های شور مانند ماهی‌های نمک سود و چرم‌های دباغی است. در چنین محیط‌هایی کلنی‌های *آرکی* با وضعی مشابه بستر جامد مصنوعی که در آزمایش‌ها به کار رفته‌اند، در کنار هم قرار می‌گیرند و توده‌ی انبوه سلول‌هایی که در یک کلنی در کنار هم قرار می‌گیرند، غلظت موثر هالوسین تولید شده‌ی آن‌ها افزایش می‌یابد، به طوری که در این جا مسئله‌ی رقابت توسط هالوسین‌ها روشن خواهد شد (۶۹).

کاربردهای بیوتکنولوژی

کشف مولکول‌های فعال جهت کاربردهای پزشکی، داروسازی و یا کاربردهای بیوتکنولوژیکی اغلب از عصاره‌های زیستی الهام می‌گیرد. به طور سنتی، تحقیقات روی ارگانیسم‌های شناخته شده مانند گیاهان، قارچ‌های رشته‌ای یا باکتری‌ها جهت تولید متابولیت‌های ثانویه‌ی متنوع، متمرکز شده است. با توجه به کشفیات اخیر، *آرکیا* به عنوان منشاء قوی از ترکیبات فعال به طور کامل نادیده گرفته شده است. دلیل استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی *آرکیاها*، می‌تواند ناشی از مکانیسم عمل و دقت در شناسایی مولکول هدف باشد که تاکنون مطالعات اندکی به این مسئله پرداخته‌اند.

برخی از کاربردهای هالوسین به طور خلاصه در زیر جهت برجسته کردن اهمیت صنعتی و بالینی آن‌ها توضیح داده شده است:

الف) فعالیت ضد میکروبی: سولفولوبیسین‌ها به وزیکول‌های غشایی به عنوان یک اسباب ترشحی متصل هستند. گزارش فعالیت هالوسین در ارتباط با فراکشن‌های غشایی سلول این حدس را تقویت می‌کند که وزیکول‌های غشایی ممکن است در عفونت‌های اورژانسی چند مقاومتی دخالت کنند و از آن‌جایی که تحقیق برای کشف ترکیبات فعال جدید بر ضدمیکروب‌های پاتوژن یک چالش بزرگ برای جوامع مدرن ما محسوب می‌شود، این موضوع اهمیت دارد.

ب) نگهدارنده برای محصولات غذایی شور: از آن‌جایی که، رشد *هالوآرکیاها* و ترشح آنزیم‌های هیدرولیتیک آن‌ها باعث آسیب قابل توجهی در محصولات غذایی شور مانند گوشت شور، ماهی، پنیر، زیتون، رب گوجه فرنگی، برگ انگور، ترشی و برخی محصولات غذایی تخمیر شده شوند. هالوسین‌ها می‌توانند به عنوان نگهدارنده‌ی مواد غذایی رشد *هالوآرکیاها* را در محصولات غذایی آلوده مانند گوشت نمک سود شده، ماهی شور و سبزیجات شور یا تخمیر شده کنترل کنند (۷۰).

پایداری قابل توجه هالوسین‌ها و فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها در برابر اعضاء *هالوآرکیاهای* دیگر، پایداری آن‌ها را در جلوگیری از آلودگی در محصولات غذایی تأیید می‌کند. چندین سویه *هالوآرکیا* تا کنون از غذاهای تخمیر شده با غلظت بالای نمک جدا شده‌اند (۷۱). افزودن مقادیر زیاد نمک یک فرایند متداول برای نگهداری انواع مختلف محصولات غذایی شور است، ولی شرایط مساعدی را هم برای رشد *هالوآرکیاها* که می‌توانند این گونه محصولات غذایی را آلوده و فاسد کنند، فراهم می‌کند (۷۲). به عنوان مثال ماهی شور ممکن است به دلیل رشد گونه‌های *هالوکوکوس* و *هالوباکتریوم* ظاهر قرمز رنگی پیدا کند که باعث کاهش کیفیت محصول و از این رو باعث زیان اقتصادی می‌شود. در طول تشکیل هالیت از نمک‌های اشباع شده با کلرید سدیم سلول‌های *هالوآرکیا* در داخل مایع به دام می‌افتند. آن‌ها در داخل کریستال‌های در حال رشد قرار می‌گیرند و برای هفته‌ها یا سال‌ها باقی می‌مانند (۷۳).

ج) حفظ پوست دباغی شده: در طی فرایند دباغی، جهت حفاظت پوست حیوانات کنده شده آن‌ها را در مقدار زیادی نمک خیس می‌کنند. این نمک‌های خام اغلب حاوی هالوفیل‌ها از جمله *آرکیا* هستند که با لیپولیز و پروتئولیز می‌توانند باعث آسیب به پوست شوند. پوست سرشار از پروتین و مستعد رشد میکروبی است. تا به حال چندین *آرکیا* هالوفیل پروتئولیتیک و لیپولیتیک گزارش شده‌اند که می‌توانند باعث آلودگی پوست در حین ذخیره‌سازی پوست‌های پخته شده با آب نمک گردیده و

بر کیفیت آن تأثیر منفی بگذارد یا باعث کاهش ارزش چرم شوند (۷۴). برای کنترل رشد *هالوآرکیاهای* مشکل ساز، هالوسین می‌تواند به عنوان یک جایگزین مؤثر استفاده شود (۷۵).

د) جلوگیری از صدمات قلبی: هالوسین H6 تنها ترکیب ضد میکروبی *آرکیاها* می‌باشد که هدف مولکول آن به وضوح مشخص شده است (۴۲) و به عنوان آنتی پورتر Na^+/H^+ (NHE) در وظایف ضروری سلول شبیه تنظیم pH داخل سلول، هوموئوستازی سدیم وتنظیم حجم سلول دخالت می‌کند (۷۶). اطلاعات اخیر نشان می‌دهد که اختلال NHE در ارتباط با چندین بیماری جدی تهدید کننده زندگی مثل بیماری‌های قلبی و سرطان‌ها می‌باشد (۷۶). بنابراین ممانعت کننده‌های NHE یوکاریوتی می‌توانند کاندید داروهای شگفت انگیزی باشند (۷۶)، زیرا قادرند NHE یوکاریوتی را در انواع غشاهای سلولی متفاوت مختل کنند. به عنوان مثال، در یک سگ مدل ایسکمی میوکاردیال و رپرفیوژن (بررسی آسیب ناشی از ایسکمی و برقراری مجدد خون رسانی عصب سیاتیک) بررسی شده و مشاهده شده که هالوسین H6 عضله‌ی قلب را از ناراحتی‌ها و انفارکتوس حفاظت می‌کند و تعداد ضربات خارجی را کاهش می‌دهد (۱۰).

بنابراین هالوسین کاندید نوید بخشی برای معالجه‌ی صدمات قلبی را نشان می‌دهد ولی مطالعات بیشتری برای استفاده در کاربردهای دارویی نیازمند است. اگر چه تشخیص مکانیسم‌های عمل دیگر آرکئوسین‌ها، متفاوت از هالوسین H6 می‌باشد و با توجه به این نکته که بیشتر هالوسین‌ها (حداقل آن‌هایی که دارای وزن مولکولی کمی می‌باشند) و سولفولوبیسین‌ها پایداری زیادی را نشان می‌دهند ممکن است منجر به شناخت کاندیدهای دارویی غیر قابل انتظار شود (۱۰).

ه) فعالیت ضد سرطانی: هالوسین SH10 تولید شده توسط سویه *ناترینما* (*Natrinema* sp BTSH10) تنها هالوسینی است که فعالیت آن در رده‌های سلولی انسانی مورد مطالعه قرار گرفته شده است. در طی یک مطالعه در آزمایشگاه نشان داده شده است که هالوسین SH10 پتانسیل لیز رده‌های سلولی سرطانی مختلف مانند A549 (کارسینوم ریه)،Hep2 (کارسینوم حنجره)، HeLa (سرطان دهانه رحم) و OAW42 (سلول‌های سرطان تخمدان) را دارد. درحالی که روی سلول‌های طبیعی بسیار کمتر تأثیر می‌گذارد. همچنین با آزمایش هالوسین در داخل بدن موش‌های آلبینو دارای لنفوم، فعالیت ضد سرطانی و کاربرد درمانی بالقوه هالوسین SH10 نشان داده شده است (۱۰).

و) ابزار جذب DNA: اخیراً یک خاصیت منحصر به فرد از هالوسین H4 تولید شده توسط *هالوفراکس* (*Haloferax* sp Q22) نشان داده شده که می‌تواند به عنوان یک القاء کننده جدید یا فعال کننده جذب DNA در *هالوفراکس مدیترانه‌ای* (*Hfxmediterranei*) عمل کند. در غلظت‌های پایین، هالوسین H4 غشای سلولی *هالوفراکس مدیترانه‌ای* (*Hfx. mediterranei*) را برای تسریع جذب DNA سوراخ می‌کند.

همچنین نفوذپذیری سلول *هالوفراکس مدیترانه‌ای* سویه DF50-ΔEPS (حامل ژن حذف اگزوپلی‌ساکاریدها) را با ایجاد سوراخ‌های زیادی که با میکروسکوپ الکترونی SEM قابل مشاهده است، افزایش می‌دهد. با این حال، در غلظت‌های بالاتر هالوسین H4 می‌تواند سلول‌های هدف را لیز کند. حذف ژن *hal*H4 کارآیی جذب DNA در سویه *DF50-ΔEPS* را به شدت کاهش می‌دهد (۱۰).

بنابراین، برخی از هالوسین‌ها ممکن است به عنوان یک ابزار مولکولی در طول تغییر شکل و دستکاری ژنتیکی *هالوآرکیاها* استفاده شوند.

نتیجه‌گیری

باکتری‌ها و *آرکیاها* برای حفظ پایداری پروتین خود در چنین شرایطی از ساز و کار خاص تعادل و قرارگیری اسید آمینه‌های خاص در سطح پروتین خود استفاده می‌کنند. به‌طوری که ساختمان سه بعدی آن‌ها از طریق باندهای دی سولفیدی و پیوندهای یونی پایدار می‌ماند. به این ترتیب آرکئوسین‌ها، ماندن *آرکیاها* را در شرایط محیطی ناخوشایند ممکن می‌سازند.

با توجه به افزایش موارد بیماری‌های شدید و همه‌گیر، افزایش

مقاومت دارویی، کاهش اثر بخشی داروهای جدید و عدم وجود داروهای جدید در خط توسعه، هالوسین می‌تواند بخشی از ساز و کارهای جدید برای حل این مشکلات باشد.

مطالعات آینده، تفاوت ظاهری و تولید و نقش این پپتیدهای ضدمیکروبی را مانند تقسیم آرکئوسین‌ها هنگام تقسیم *آرکیا*، پتانسیل انتقال افقی در میان *آرکیاها* و مسیرهای بلوغ و بیوسنتز آرکئوسین را روشن خواهد کرد. همچنین تحقیق روی آرکئوسین، مکانیسم اولیه، ساختمان سه بعدی و پتانسیل کاربردی آن را برای بشر در سال‌های بعد آشکار خواهد کرد. کاوش بیشتر در زمینه هالوسین‌ها با استفاده از ابزارهای مدرن و تکنیک‌هایی مانند زیست‌شناسی مولکولی و بیوانفورماتیک می‌تواند منجر به امکانات بیوتکنولوژی عظیم در آینده شود.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت گروه زیست سلولی و مولکولی و میکروبیولوژی دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی دانشگاه اصفهان انجام گردیده است. بدین وسیله از مسئوولین این دانشکده تشکر و قدردانی می‌نماییم.

تعارض منافع

وجود ندارد.

References

1. Haney EF, Brito-Sánchez Y, Trimble MJ, Mansour SC, Cherkasov A, Hancock RE. Computer-aided discovery of peptides that specifically attack bacterial biofilms. Scientific reports. 2018;8(1):1-12.
2. Chandrangsu P, Rensing C, Helmann JD. Metal homeostasis and resistance in bacteria. Nat Rev Microbiol. 2017;15(6):338-50.
3. Wong DL, Merrifield-MacRae ME, Stillman MJ. Lead (II) binding in metallothioneins. Lead: Its Effects on Environment and Health. 2017;17:241.
4. Lee T-H, N Hall K, Aguilar M-I. Antimicrobial peptide structure and mechanism of action: a focus on the role of membrane structure. Current topics in medicinal chemistry. 2016;16(1): 25-39.
5. Roscetto E, Contursi P, Vollaro A, Fusco S, Notomista E, Catania MR. Antifungal and anti-biofilm activity of the first cryptic antimicrobial peptide from an archaeal protein against Candida spp. clinical isolates. Scientific reports. 2018;8(1):1-11.
6. Wiradharma N, Sng MY, Khan M, Ong ZY, Yang YY. Rationally designed α-helical broad-spectrum antimicrobial peptides with idealized facial amphiphilicity. Macromolecular rapid communications. 2013;34(1):74-80.
7. Fjell CD, Hiss JA, Hancock RE, Schneider G. Designing antimicrobial peptides: form follows function. Nature reviews Drug discovery. 2012;11(1):37-51.
8. Candido ES, Cardoso MH, Chan LY, Torres MD, Oshiro KG, Porto WF, et al. Short cationic peptide derived from Archaea with dual antibacterial properties and anti-infective potential. ACS infectious diseases. 2019;5(7):1081-6.

9. Atanasova NS, Pietilä MK, Oksanen HM. Diverse antimicrobial interactions of halophilic archaea and bacteria extend over geographical distances and cross the domain barrier. MicrobiologyOpen. 2013;2(5):811-25.
10. Kumar V, Singh B, van Belkum MJ, Diep DB, Chikindas ML, Ermakov AM, et al. Halocins, natural antimicrobials of Archaea: Exotic or special or both? Biotechnology Advances. 2021;53:107834.
11. Corral P, Amoozegar MA, Ventosa A. Halophiles and their biomolecules: Recent advances and future applications in biomedicine. Marine drugs. 2020;18(1):33.
12. Arahal DR, Oren A, Ventosa A. International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the taxonomy of Halobacteria and Subcommittee on the taxonomy of Halomonadaceae. Minutes of the joint open meeting, 11 July 2017, Valencia, Spain. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2017;67(10):4279.
13. Torregrosa-Crespo J, Pire Galiana C, Martínez-Espinosa RM. Biocompounds from Haloarchaea and their uses in biotechnology. Archaea-New Biocatalysts, Novel Pharmaceuticals and Various Biotechnological Applications InTech. 2017:63-82.
14. Seckbach J, Oren A, Stan-Lotter H. Polyextremophiles: life under multiple forms of stress: Springer Science & Business Media; 2013.
15. Bowers KJ, Wiegel J. Temperature and pH optima of extremely halophilic archaea: a mini-review. Extremophiles. 2011;15(2):119-28.
16. Zaghian S, Emtiazi G, Shokri D. A Bacteriocin with Broad Antimicrobial Activity Produced by Newly Isolated Nitrogen-Fixing Bacillus Strains. Journal of Isfahan Medical School. 2013;30(218).
17. Ghoul M, Mitri S. The ecology and evolution of microbial competition. Trends in microbiology. 2016;24(10):833-45.
18. Besse A, Peduzzi J, Rebuffat S, Carre-Mlouka A. Antimicrobial peptides and proteins in the face of extremes: Lessons from archaeocins. Biochimie. 2015;118:344-55.
19. Arnison PG, Bibb MJ, Bierbaum G, Bowers AA, Bugni TS, Bulaj G, et al. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature. Natural product reports. 2013;30(1):108-60.
20. Jenab A, Roghanian R, Emtiazi G. Encapsulation of platelet in kefiran polymer and detection of bioavailability of immobilized platelet in probiotic kefiran as a new drug for surface bleeding. Journal of Medical Bacteriology. 2015;4(3-4):45-55.
21. Motahari P, Amini-Bayat Z, Mirdamadi S. Bacteriocins: New generation of antimicrobial peptides. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2017;21(2):79-94.
22. Mirhosseini M, Emtiazi G. Optimisation of enterocin A production on a whey-based substrate. World Appl Sci J. 2011;14(10):1493-9.

23. Vassiliadis G, Destoumieux-Garzón D, Peduzzi J. Class II microcins. Prokaryotic antimicrobial peptides: Springer; 2011. p. 309-32.

24. Cotter PD. An ‘U pp'-turn in bacteriocin receptor identification. Molecular microbiology. 2014;92(6):1159-63.

25. Pizzo E, Cafaro V, Di Donato A, Notomista E. Cryptic antimicrobial peptides: identification methods and current knowledge of their immunomodulatory properties. Current pharmaceutical design. 2018;24(10):1054-66.

26. Pane K, Durante L, Crescenzi O, Cafaro V, Pizzo E, Varcamonti M, et al. Antimicrobial potency of cationic antimicrobial peptides can be predicted from their amino acid composition: Application to the detection of “cryptic” antimicrobial peptides. Journal of theoretical biology. 2017;419:254-65.

27. Swidergall M, Ernst JF. Interplay between Candida albicans and the antimicrobial peptide armory. Eukaryotic cell. 2014;13(8):950-7.

28. Zaghian S, Shokri D, Emtiazi G. Co-production of a UV-stable bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) and indole-3-acetic acid hormone (IAA) and their optimization by Taguchi design in Bacillus pumilus. Annals of microbiology. 2012;62(3):1189-97.

29. Meena KR, Kanwar SS. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics. BioMed research international. 2015;2015.

30. Fanaei M, Emtiazi G. Microbial assisted (Bacillus mojavensis) production of bio-surfactant lipopeptide with potential pharmaceutical applications and its characterization by MALDI-TOF-MS analysis. Journal of Molecular Liquids. 2018;268:707-14.

31. Mirani ZA, Khan MN, Siddiqui A, Khan F, Aziz M, Naz S, et al. Ascorbic acid augments colony spreading by reducing biofilm formation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Iranian journal of basic medical sciences. 2018;21(2):175.

32. Mishra B, Lushnikova T, Wang G. Small lipopeptides possess anti-biofilm capability comparable to daptomycin and vancomycin. RSC advances. 2015;5(73):59758-69.

33. Alajlani M, Shiekh A, Hasnain S, Brantner A. Purification of bioactive lipopeptides produced by Bacillus subtilis strain BIA. Chromatographia. 2016;79(21):1527-32.

34. Etemadzadeh SS, Emtiazi G. In vitro identification of antimicrobial hemolytic lipopeptide from halotolerant Bacillus by Zymogram, FTIR, and GC mass analysis. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2021;24(5):666.

35. Ghoreishi FS, Roghanian R, Emtiazi G. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factors with natural substances and novel protease, obtained from Halobacillus karajensis. Microbial Pathogenesis. 2020;149:104555.

36. Dehghanifar S, Keyhanfar M, Emtiazi G. Production and partial purification of thermostable bacteriocins from Bacillus pumilus ZED17 and DFAR8 strains with antifungal activity. Molecular Biology Research Communications. 2019;8(1):41.

37. Ghanmi F, Carré-Mlouka A, Zarai Z, Mejdoub H, Peduzzi J, Maalej S, et al. The extremely halophilic archaeon Halobacterium salinarum ETD5 from the solar saltern of Sfax (Tunisia) produces multiple halocins. Research in microbiology. 2020;171(2):80-90.

38. Rodriguez-Valera F, editor Biotechnological potential of halobacteria. Biochemical Society Symposium; 1992.

39. Tadeo X, López-Méndez B, Trigueros T, Laín A, Castano D, Millet O. Structural basis for the aminoacid composition of proteins from halophilic archea. PLoS biology. 2009;7 (12):e1000257.

40. Matarredona L, Camacho M, Zafrilla B, Bonete M-J, Esclapez J. The role of stress proteins in Haloarchaea and their adaptive response to environmental shifts. Biomolecules. 2020;10 (10):1390.

41. Price LB, Shand RF. Halocin S8: a 36-amino-acid microhalocin from the haloarchaeal strain S8a. Journal of bacteriology. 2000;182(17):4951-8.

42. Abbasi S, Emtiazi G. MALDI-TOF analysis of a novel extremophile peptide purified from Halarchaeum acidiphilum ASDL78 with antiarchaeal and antibacterial activities. Journal of Basic Microbiology. 2020;60(11-12):920-30.

43. Gabrielsen C, Brede DA, Nes IF, Diep DB. Circular bacteriocins: biosynthesis and mode of action. Applied and environmental microbiology. 2014;80(22):6854-62.

44. Platas G, Meseguer I, Amils R. Purification and biological characterization of halocin H1 from Haloferax mediterranei M2a. International Microbiology. 2002;5(1):15-9.

45. O'connor E, Shand R. Halocins and sulfolobicins: the emerging story of archaeal protein and peptide antibiotics. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2002;28(1):23-31.

46. Meseguer I, Torreblanca M, Konishi T. Specific Inhibition of the Halobacterial Na+/H+ Antiporter by Halocin H6 (*). Journal of Biological Chemistry. 1995;270(12):6450-5.

47. Lequerica JL, O'Connor J, Such L, Alberola A, Meseguer I, Dolz M, et al. A halocin acting on Na+/H+ exchanger of Haloarchaea as a new type of inhibitor in NHE of mammals. Journal of physiology and biochemistry. 2006;62(4):253-62.

48. Paulino C, Wöhlert D, Kapotova E, Yildiz Ö, Kühlbrandt W. Structure and transport mechanism of the sodium/proton antiporter MjNhaP1. Elife. 2014;3:e03583.

49. Haseltine C, Hill T, Montalvo-Rodriguez R, Kemper SK, Shand RF, Blum P. Secreted euryarchaeal microhalocins kill hyperthermophilic crenarchaea. Journal of bacteriology. 2001;183(1):287-91.

50. Shand RF, Leyva KJ. Peptide and protein antibiotics from the domain Archaea: halocins and sulfolobicins. Bacteriocins: Springer; 2007. p. 93-109.

51. Meknaci R, Lopes P, Servy C, Le Caer J-P, Andrieu J-P, Hacène H, et al. Agar-supported cultivation of Halorubrum sp. SSR, and production of halocin C8 on the scale-up prototype Platotex. Extremophiles. 2014;18(6):1049-55.

52. Imadalou-Idres N, Carré-Mlouka A, Vandervennet M, Yahiaoui H, Peduzzi J, Rebuffat S. Diversity and antimicrobial activity of cultivable halophilic archaea from three Algerian sites. Journal of Life Sciences. 2013;7(10):1057.

53. Sun C, Li Y, Mei S, Lu Q, Zhou L, Xiang H. A single gene directs both production and immunity of halocin C8 in a haloarchaeal strain AS7092. Molecular microbiology. 2005;57 (2):537-49.

54. Duquesne S, Destoumieux-Garzón D, Peduzzi J, Rebuffat S. Microcins, gene-encoded antibacterial peptides from enterobacteria. Natural product reports. 2007;24(4):708-34.

55. Palmer T, Berks BC. The twin-arginine translocation (Tat) protein export pathway. Nature Reviews Microbiology. 2012;10(7):483-96.

56. Stein T, Heinzmann S, Solovieva I, Entian K-D. Function of Lactococcus lactis nisin immunity genes nisI and nisFEG after coordinated expression in the surrogate host *Bacillus subtilis*. Journal of Biological Chemistry. 2003;278(1):89-94.

57. Shand RF, Leyva KJ. Archaeal antimicrobials: an undiscovered country. *Archaea*: new models for prokaryotic biology. 2008;2008.

58. Pašić L, Velikonja BH, Ulrih NP. Optimization of the culture conditions for the production of a bacteriocin from halophilic archaeon Sech7a. Preparative biochemistry & biotechnology. 2008;38(3):229-45.

59. Kavitha P, Lipton A, Sarika A, Aishwarya M. Growth characteristics and halocin production by a new isolate, Haloferax volcanii KPS1 from Kovalam solar saltern (India). Res J Biol Sci. 2011;6:257-62.

60. Karthikeyan P, Bhat SG, Chandrasekaran. Halocin SH10 production by an extreme haloarchaeon Natrinema sp. BTSH10 isolated from salt pans of South India. Saudi journal of biological sciences. 2013;20(2):205-12.

61. Kushner DJ. Life in high salt and solute concentrations: halophilic bacteria. Microbial life in extreme environments. 1978.

62. Kumar V, Tiwari SK. Activity-guided separation and characterization of new halocin HA3 from fermented broth of Haloferax larsenii HA3. Extremophiles. 2017;21(3):609-21.

63. Mazguene S, Rossi M, Gogliettino M, Palmieri G, Cocca E, Mirino S, et al. Isolation and characterization from solar salterns of North Algeria of a haloarchaeon producing a new halocin. Extremophiles. 2018;22(2):259-70.

64. Ellen AF, Rohulya OV, Fusetti F, Wagner M, Albers S-V, Driessen AJ. The sulfolobicin genes of Sulfolobus acidocaldarius encode novel antimicrobial proteins. Journal of bacteriology. 2011;193(17):4380-7.

65. Kawarabayasi Y, Hino Y, Horikawa H, Jin-no K, Takahashi M, Sekine M, et al. Complete genome sequence of an aerobic thermoacidophilic crenarchaeon, Sulfolobus tokodaii strain7. DNA research. 2001;8(4):123-40.

66. Majeed H, Gillor O, Kerr B, Riley MA. Competitive interactions in *Escherichia coli* populations: the role of bacteriocins. The ISME journal. 2011;5(1):71-81.

67. Kjos M, Borrero J, Opsata M, Birri DJ, Holo H, Cintas LM, et al. Target recognition, resistance, immunity and genome mining of class II bacteriocins from Gram-positive bacteria. Microbiology. 2011;157(12):3256-67.

68. Montgomery K, Charlesworth JC, LeBard R, Visscher PT, Burns BP. Quorum sensing in extreme environments. Life. 2013;3(1):131-48.

69. Paggi RA, Martone CB, Fuqua C, De Castro RE. Detection of quorum sensing signals in the haloalkaliphilic archaeon Natronococcus occultus. FEMS microbiology letters. 2003;221(1):49 -52.

70. Singh A, Singh AK. Haloarchaea: worth exploring for their biotechnological potential. Biotechnology letters. 2017;39(12):1793-800.

71. Birbir M. Examination of amylase, caseinase and cellulase enzyme production of extremely halophilic strains isolated from Tuz Lake, Kaldırım and Kayacık Salterns and Tuzköy salt mine. Marine Bacteriology. 2004:25-7.

72. Lee H-S. Diversity of halophilic archaea in fermented foods and human intestines and their application. Journal of microbiology and biotechnology. 2013;23(12):1645-53.

73. Huby TJ, Clark DR, McKew BA, McGenity TJ. Extremely halophilic archaeal communities are resilient to short-term entombment in halite. Environmental microbiology. 2021;23 (7):3370-83.

74. Wu J, Zhao L, Liu X, Chen W, Gu H. Recent progress in cleaner preservation of hides and skins. Journal of Cleaner Production. 2017;148:158-73.

75. Birbir M, Eryilmaz S. Inhibiting lipolytic haloarchaeal damage on brine cured hides with halocin producer strains. Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists. 2007;91(2).

76. Donowitz M, Tse CM, Fuster D. SLC9/NHE gene family, a plasma membrane and organellar family of Na+/H+ exchangers. Molecular aspects of medicine. 2013;34(2-3):236-51.