مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۲، شماره ۳، پائیز ۱۳۹۸

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

معرفی اکتوئین به عنوان محلول سازگار: مسیر بیوسنتز، تولید و کاربردها

ارغوان کمالی [۱]، مریم صادقی [۲] و اکرم صادقی [۳*]

۱- دکترای گیاهپزشکی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- کارشناس ارشد بیوشیمی، بانک مولکولی، مرکز ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، تهران، ایران

۳- استادیار ژنتیک مولکولی، بخش بیوتکنولوژی میکروبی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

aksadeghi@abrii.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۱۰، تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۲۷

صفحه ۲۶-۱

چکیده

میکروارگانیزم‌های شورپسند با تولید و انباشته کردن محلول‌های سازگار با تنش‌های محیطی مقابله می‌کنند. اکتوئین از مهمترین اعضاء محلول‌های سازگار است و خواص محافظتی بیشتری نسبت به بقیه اعضا این گروه دارند. اکتوئین به دلیل کاربردهای صنعتی گوناگون، چه از نظر علمی و چه از نظر تجاری بسیار مورد توجه است. در این مقاله به‌طور خلاصه کاربرد اکتوئین به عنوان یک عامل محافظت‌کننده پروتئین با ارائه مدل حذف ترجیحی شرح داده شده است. همچنین کاربردهای دیگر اکتوئین به عنوان تثبیت‌کننده آنزیم و یا دارو برای بیماری‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. علاوه بر این نقش اکتوئین به عنوان تثبیت‌کننده ماکرومولکول‌ها و حتی کل سلول در برابر اشعه ماوراء بنفش، یخ‌زدگی، خشکی و دمای بالا به طور خلاصه شرح داده شده است. ژن‌های رمزکننده آنزیم‌های ساخت اکتوئین در خوشه ژنی *ectABC* قرار دارند. در این مقاله همچنین تنظیم بیان این ژن‌ها تحت تاثیر شرایط محیطی به‌طور مختصر مورد بررسی قرار گرفته است. در حال حاضر برای تولید اکتوئین دو تکنولوژی با نام‌های شیردوشی زیستی (bio-milking) باکتریایی و جهش نشتی (leaky mutant) وجود دارد. با کمک این دو روش سالانه چندین تن اکتوئین تولید می‌شود. در انتها به محدودیت‌های این دو روش اشاره شده است.

واژه‌های کلیدی: اکتوئین، جهش نشتی، شیردوشی زیستی، محلول سازگار، میکروارگانیزم‌های شورپسند.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

مقدمه

شوری یکی از قوی‌ترین تنش‌های غیر زیستی در طبیعت است که می‌تواند اثرهای مخربی روی موجودات زنده داشته باشد. هنگامی که یک سلول در یک محیط با غلظت بالای نمک قرار می‌گیرد، فشار اسمزی موجب خروج مولکول‌های آب غیرپیوندی سلول می‌شود. خروج آب سیتوپلاسم باعث غلیظ شدن آن، مختل شدن عملکرد سلول و در نهایت مرگ سلول می‌شود. تغییرات در شوری محیط یکی از شدیدترین عوامل تنش‌زای محیطی است که هم جانوران تک‌سلولی و هم پر سلولی را به یک نسبت تحت‌تاثیر خود قرار می‌دهد (۱). علت اصلی آن مکانیزم های سازگاری خاصی است که جهت تنظیم فشار اسمزی و مقابله با غلظت بالای نمک در سلول ایجاد شده است. استفاده از این مکانیزم‌ها نیازمند صرف انرژی زیاد توسط سلول است (۲). سلول هایی که در محیط شور قرار می‌گیرند، در اثر ایجاد شیب اسمزی آب خود را از دست می‌دهند. در چنین سلولی اسیدهای نوکلئیک و دیگر ماکرومولکول‌ها واسرشته (Denature) شده و پروتئین‌ها متراکم و رسوب می‌کنند. همچنین آنزیم‌ها ساختمان سوم خود و به دنبال آن عملکرد کاتالیزوری خود را از دست می‌دهند (۳). با این وجود آرکی‌ها، باکتری‌ها و یوکاریوت‌های تک سلولی در محیط‌های بسیار شور مانند دریاچه‌های نمک یافت می‌شوند (۴). به این موجودات که برای زنده ماندن و رشد به بیش از ۲/۰ مولار سدیم کلراید (NaCl) نیاز دارند نمک دوست (Halophile)، گفته می‌شود (۵).

به‌طور کلی دو مکانیزم برای مقابله و سازگاری با محیط‌های شور در هر سه گروه موجودات (پروکاریوت‌ها، یوکاریوت ها و آرکی‌ها) وجود دارد. اولین مکانیزم، محتوای درونی پر نمک (High-salt-in) و دومی محتوای درونی کم‌نمک (Low-salt-in) نام دارد. هر دو این راهکارها بر پایه افزایش فشار اسمزی داخل سلولی است تا از خارج شدن آب داخل سلول جلوگیری شود. در روش اول سلول یون‌های کلر و پتاسیم را درون سیتوپلاسم خود ذخیره می کند. مقدار جذب این دو یون توسط سلول بستگی به غلظت یون‌های موجود در

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

محیط اطراف سلول (میزان فشار اسمزی محیط) دارد. پروتئین‌ها و مخصوصا آنزیم های داخل سلولی مجبورند در چنین محیط یونی غلیظی فعالیت خود را حفظ کنند. مکانیزم‌های سازگاری پیچیده‌ای در این نوع آنزیم‌ها بکار گرفته شده است. از جمله می‌توان به تجمع پروتئین‌های اسیدی اشاره کرد. همچنین پروتئین‌های موجود در سلول‌های نمک‌دوست غنی از اسیدآمینه‌های آب‌دوست (Hydrophil) هستند. وجود این اسیدآمینه‌ها مانع از انقباض و در هم پیچیده شدن بیش از حد پروتئین‌ها در محیط‌های غلیظ نمکی می شود. پروتئین‌های نمک دوست به دلیل وجود چنین پیچیدگی‌هایی در محیط‌های معمولی ناپایدار هستند. بنابراین، این راهکار تنها برای محیط‌هایی مناسب است که شوری و فشار اسمزی در آن‌ها به صورت دائمی بالا است. تنها گروه کوچکی از نمک‌دوست‌ها مانند اعضا غیر هوازی HALOBACTERIACEAE از آرکی‌ها، SALINIBACTER از باکتری‌ها و Halanaerobiales غیرهوازی از این راهکار استفاده می‌کنند (۶). در محیط‌هایی که میزان شوری محیط نوسان دارد بیشتر نمک‌دوست‌های باکتریایی و یوکاریوتی از روش دیگری به نام low-salt-in استفاده می‌کنند. اساس این روش تولید و تجمع محلول‌های سازگار (Compatible Solutes) یا اسمولیت (Osmolyte) در داخل سلول، جهت حفظ تعادل اسمزی با محیط است (۷). این مواد مجموعه متنوعی از ترکیبات آلی با حلالیت بالا، وزن مولکولی پایین، بدون بار و یا خنثی هستند. علت استفاده از واژه سازگار بدین دلیل است که این مواد حتی در غلظت‌های بالا در سوخت و ساز سلول دخالتی ندارند. برعکس، شواهدی وجود دارد که این مواد دارای خواص پایدارکننده برای ماکرومولکول‌ها و کل سلول هستند و از آنزیم‌ها در برابر مهارشدن، غیرفعال‌شدن و واسرشته‌شدن محافظت می‌کنند. این مواد از ساختارهای شیمیایی متنوعی مانند قندها (سوکروز و تره‌هالوز)، پلی‌ال‌ها (Polyols) یا ترکیبات آلی با چندین گروه هیدروکسیل مانند گلیسرول، سوربیتول، مانیتول، بتائین، اسیدهای‌آمینه مانند پرولین، گلوتامات، گلوتامین و آلانین،

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

اکتوئین (Ectoine) و مشتق هیدروکسیله آن هیدروکسی اکتوئین(Hydroxyectoine) تشکیل شده‌اند (۸). این مواد نه تنها از پروتئین‌ها در برابر واسرشته شدن محافظت می‌کنند بلکه دارای خواص محافظت‌کنندگی از مولکول‌های دی.ان.ا در برابر اثرهای مخرب خشکی، یخ‌زدگی، دمای بالا و اشعه ماوراء بنفش نیز هستند (۹).

اکتوئین یا ((S)−2-Methyl-1,4,5,6-Tetrahydropyrimidine-4-Carboxylic Acid) یکی از اصلی‌ترین محلول‌های سازگار موجود در باکتری‌هاست (۱۰) و دارای خواص محافظتی بیشتری در مقایسه با بقیه محلول‌های سازگار مانند گلایسین بتائین و پرولین است. به طوریکه می‌تواند کل سلول را در برابر اثرهای مخرب ناشی از اشعه UV، سیتوتوکسین‌ها و ذرات نانو محافظت کند (۱۱).

اگر چه اسمولیت‌ها در غلظت‌های بالا در سلول تولید و ذخیره می‌شوند، به دلیل نداشتن یک کروموفر منحصر به فرد (بخشی از مولکول که مسئول ایجاد رنگ خاص در یک ماده خاص است که می‌تواند معیار شناسایی و اندازه‌گیری آن باشد) به راحتی قابل شناسایی نیستند. برای شناسایی این مواد از روش‌هایی چون تجزیه و تحلیل HPLC (High Performance Liquid Chromatography) و طیف‌سنجی NMR (Nuclear Magnetic Resonance) با وضوح بالا استفاده می‌شود. از دهه ۱۹۷۰ تاکنون از انواع روش‌های NMR برای شناسایی محلول‌های سازگار آلی تولید شده توسط میکروارگانیزم‌های نمک دوست استفاده شده است. در ابتدا از روش 13C NMR جهت شناسایی اکتوئین (۱۰)، بتاآمینواسیدها و Di-Myoinositol- 1,1'-Phosphate در میکروارگانیزم‌های گرمادوست استفاده می شد (۱۲). امروزه روش‌های جدیدتری مانند 1H NMR و NMR دوبعدی به‌طور قابل‌توجهی حساسیت تشخیص محلول‌های سازگار را افزایش داده‌اند. مزیت استفاده از روش 1H NMR این است که بدون نیاز به انجام مراحل استخراج می‌توان نوع و مقدار محلول‌های سازگار را در محیط کشت سلول تشخیص

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

داد (۱۳). یک روش جدیدتر و حساس‌تر استفاده ترکیبی از دو روش کروماتوگرافی تبادل آنیونی و تشخیص آمپرومتری پالسی (Pulse Amperometric) است که می‌تواند اسمولیت‌هایی مانند اکتوئین را حتی بعد از هیدرولیز حلقه پیریمیدین شناسایی کند. این روش به قدری کارآمد است که می‌توان از آن برای غربالگری کلون‌های روی آگار استفاده کرد (۱۴).

اکتوئین‌ها و میکروارگانیزم‌های تولید کننده آن‌ها

از اکتوئین می‌توان به عنوان یک نشانگر برای شناسایی باکتری‌های نمک دوست استفاده کرد. این ماده توسط طیف وسیعی از باکتری‌های نمک دوست و متحمل به شوری تولید می‌شود و اولین بار در باکتری نمک‌دوست فتوسنتزکننده *Halorhodospora halochloris* شناسایی شد (۱۰). در کشت سلولی با افزایش غلظت خارج‌سلولی NaCl می‌توان باعث افزایش درون‌سلولی غلظت اکتوئین شد. با غربالگری تعداد زیادی از میکروارگانیزم‌ها نشان داده شد که اکتوئین اسمولیت اصلی باکتری‌های هوازی غیرفتوسنتزکننده است (۱۵). بعد از آن، پژوهش‌ها بیشتر باعث کشف این ماده در باکتری‌های متیلوتروف (Methylotroph) مانند *Methylarcula marina*، *M. terricola* و *Methylophaga sp.* شد (۱۶). همچنین برای اولین بار هیدروکسی اکتوئین از باکتری گرم مثبت *Streptomyces parvulus* موجود در خاک جدا شد (۱۷). اکتوئین به میزان زیادی در آلفا و گاما پروتئوباکترها (Alpha and gamma proteobacteria) و اکتینوباکترها (Actinobacteria) تولید می‌شود. در طبقه بندی مواد شیمیایی می‌توان اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین را به عنوان اسیدآمینه های هتروسیکلیک (ترکیبات حلقوی که اتم‌های سازنده حلقه از دو یا چند نوع مختلف هستند) و یا مشتقات پیریمیدینی نیمه هیدروژنه طبقه‌بندی کرد (۱۸). مطالعات نشان داده‌اند که شرایط رشد روی میزان تولید اکتوئین توسط باکتری اثر دارد. به‌عنوان مثال در *Brevibacterium* میزان تولید اکتوئین نه تنها به غلظت نمک محیط بیرون سلول بستگی دارد، بلکه به نوع منبع کربن و میزان هوادهی نیز وابسته است (۱۹). تولید و تجمع اکتوئین به

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

مرحله رشد باکتری نیز بستگی دارد. به عنوان مثال در باکتری *Chromohalobacter israelensis* اکتوئین تنها در صورتی تولید می‌شود که باکتری‌ها در مرحله رشد تصاعدی (لگاریتمی) و در محیط کشت حاوی NaCl 6/0 مولار باشند (۲۰).

مکانیزم عمل اکتوئین

مطالعات گذشته نشان داده است که محلول‌های سازگار مانند اکتوئین و هیدروکسی‌اکتوئین به شدت جاذب رطوبت هستند و با افزایش دمای ذوب پروتئین‌های سلولی از واسرشته‌شدن آن‌ها جلوگیری می‌کنند. مکانیزم عمل اکتوئین به خوبی شناخته نشده است ولی فرضیه‌های متعددی بر اساس اصول بیوفیزیک سعی در توضیح این مکانیزم دارند. این فرضیه‌ها به دو گروه واکنش‌های مستقیم و غیرمستقیم تقسیم می‌شوند. فرضیه‌ای که به طور گسترده پذیرفته شده است و به عنوان واکنش غیرمستقیم تقسیم‌بندی می‌شود مدل حذف ترجیحی (Preferential exclusion) نام دارد. در این مدل فرض شده که پتانسیل شیمیایی آب موجود در سطح پروتئین‌ها توسط محلول‌های سازگار مختل می‌شود. واکنش‌های ترمودینامیکی مربوطه منجر به انحراف از غلظت مولی حجم کل حلال در مقایسه با محیط اطراف پروتئین می‌شود. این انحراف می‌تواند به صورت اتصال ترجیحی و یا حذف ترجیحی محلول‌های سازگار باشد. تبادلات پویای محلول‌های سازگار در سطح پروتئین‌ها منجر به تفاوت انرژی آزاد ناشی از حذف می‌شود. این تفاوت توسط افزایش معنی‌دار مولکول‌های آب در اطراف پروتئین‌ها جبران می‌شود. اثرهای هیدراتاسیون ترجیحی یا حذف ترجیحی به صورت تجمعی و همزمان است. با توجه به دلایل فوق، دلیل اصلی پایدار شدن پروتئین‌ها، مولکول‌های حلال اضافی است که به شدت با فرم طبیعی پروتئین در تعامل هستند. این تعامل شدید باعث افزایش دمای ذوب و در نتیجه پایدار شدن پروتئین در شکل طبیعی خود می‌شود. شبیه‌سازی دینامیک مولکولی نشان داده که مدل حذف ترجیحی منطبق با کلاس خاصی از پروتئین‌ها هستند. همچنین نشان داده که محلول‌های سازگار به‌طور مستقیم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

با سطح پروتئین‌ها واکنش نمی‌دهند ولی مانع پراکندگی مولکول‌های حلال از اطراف پروتئین می‌شوند. این محدودیت حرکت حلال در سطح پروتئین‌ها باعث تغییر در دمای ذوب و حفظ پایداری کینتیک پروتئین‌ها می‌شود (۲۱).

مسیر بیوسنتز اکتوئین

آنزیم‌های دی آمینوبوتیریک اسید (DABA) استیل ترنسفراز (Acetyltransferase)، DABA آمینو ترنسفراز (Aminotransferase) و اکتوئین سینتاز (Ectoine synthase) در ساخت اکتوئین دخیل هستند. همچنین تولید هیدروکسی‌اکتوئین از اکتوئین توسط آنزیم اکتوئین هیدروکسیلاز (Ectoine hydroxylase) یا ectD انجام می‌شود. مطالعات انجام شده بر روی آنزیم های استخراج شده از *E. halochloris* و *H.* elongate کمک زیادی به درک مسیر بیوسنتز اکتوئین کرده است (۲۲). اکتوئین از پیش‌ساز آسپارتات سمی آلدئید (Aspartate semialdehyde) ساخته می‌شود. این ماده همچنین در سوخت و ساز اسیدهای آمینه و به‌عنوان پیش‌سازی برای سنتز دیواره سلولی و ساخت آنتی‌بیوتیک در باکتری‌ها مشارکت دارد (۲۳). ژن‌های تولیدکننده اکتوئین به صورت یک خوشه (Cluster) ژنی قرار دارند (۲۴). در ابتدا، یک عامل آمین به آسپارتات سمی آلدئید اضافه شده و DABA تولید می‌شود. از گلوتامات به عنوان دهنده گروه آمین استفاده می‌شود و آنزیم DABA آمینوترنسفراز یا ectB این واکنش را کاتالیز می‌کند. این آنزیم پروتئینی با ۴۲۱ اسید آمینه و وزن مولکولی ۴۶ کیلو دالتون است که برای فعالیت کاتالیزوری خود نیاز به یون K^+ دارد. در مرحله بعد یک گروه استیل به DABA اضافه می‌شود. دهنده گروه استیل مولکول استیل کوآنزیم آ (Acetyl-CoA) و آنزیم کاتالیزکننده آن DABA استیل ترنسفراز یا ectA است که پروتئینی با ۱۹۲ اسید آمینه و وزن مولکولی ۲۱ کیلو دالتون است. در نهایت آنزیم اکتوئین سینتاز یا ectC موجب حلقوی شدن استیل DABA و تشکیل اکتوئین می‌شود.

آنزیم ectC پروتئینی با ۱۳۷ اسید آمینه و وزن مولکولی ۵/۱۵ کیلو دالتون است. این

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

آنزیم متعلق به خانواده آنزیمی کربن-اکسیژن لیاز (Carbon-oxygen lyases) است. آزمایشاتی که با آنزیم خالص شده انجام گرفت نشان داد که فعالیت کاتالیزوری و تمایل آنزیم به سوبسترا به شدت تحت تاثیر NaCl است. تحت شرایط تنش به‌عنوان مثال دمای بالا، *H. elongate* مقداری از اکتوئین‌های تولید شده را به هیدروکسی اکتوئین تبدیل می کند. این واکنش توسط آنزیم ectD کاتالیز می‌شود. این آنزیم یک پروتئین با ۳۳۲ اسید آمینه و وزن مولکولی ۴/۳۷ کیلو دالتون است که متعلق به زیر گروه خانواده اکسیژنازها ولی فاقد گروه Heme و آهن است. این آنزیم به‌طور مستقیم یک گروه هیدروکسیل (OH) را به اکتوئین اضافه می کند (۲۵).

ژن‌های بیوسنتز اکتوئین *ectABC* یا (*Helo_2588, Helo_2589, Helo_2590*) نام دارند و به‌طور معمول در یک خوشه ژنی در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. ژن (ectD) یا (Helo_4008) که هیدروکسی اکتوئین را از اکتوئین سنتز می‌کند در کنار این خوشه و یا در محل دیگری در نزدیکی و یا با فاصله از خوشه ژنی قرار گرفته است (۲۶).

تنظیم نسخه‌برداری ژن‌های بیوسنتز اکتوئین

اگرچه در *Streptomyces* تنها یک پیشبر (Promoter) در بالادست رونویسی از خوشه ژنی را تنظیم می‌کند (۲۷) اما در باکتری‌های دیگر دو پیشبر یکی جلوی *ectA* و دیگری بالا دست *ectC* قرار دارند. شباهت بالایی که در ژن‌های بیوسنتزکننده اکتوئین در میکروارگانیزم‌های مختلف وجود دارد نشان از آن دارد که این مسیر بیوشیمیایی در مسیر تکاملی به شدت حفظ شده است (۲۸).

در بالادست ژن *ectA* دو پیشبر که با عوامل رونویسی σ^{70} و σ^{38} مرتبط هستند، وجود دارند. پیشبر که به σ^{38} نیاز دارد در اثر افزایش فشار اسمزی القا می‌شود. در بالادست ژن *ectC* نیز پیشبر وابسته به σ^{54} قرار دارد. این نوع پیشبرها اغلب در رونویسی ژن‌های مربوط به تثبیت نیتروژن دخیل هستند (۲۹).

تنظیم رونویسی *ectABC* با پیشبرهای وابسته به σ^{38} و σ^{54} با شواهد

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

فیزیولوژیکی مشاهده‌شده در باکتری‌های دیگر مانند *Corynebacterium glutamicum* و *Halorhodospira halochloris* همخوانی دارد. در این میکروارگانیزم‌ها نشان داده شده که محلول‌های سازگار مانند پرولین و گلایسین بتائین تنها تحت تاثیر شوری ساخته نمی‌شوند بلکه میزان نیتروژن در دسترس نیز بر آن تاثیرگذار است (۳۰).

بیوسنتز اکتوئین در دو سطح رونویسی و فعالیت آنزیم تنظیم می‌شود. تجزیه و تحلیل ترانسکریپتوم (Transcriptome) *H. elongata* نشان داده است که با افزایش سدیم کلراید از ۶/۰ درصد به ۱۲ درصد میزان mRNA تولیدشده از روی ژن های *ectA*، *ectB* و *ectC* افزایش پیدا می کند.نتایج مشابهی نیز از تجزیه و تحلیل پروتئومیکس (Proteomics) نشان داد که افزایش پروتئین‌های ectABC با افزایش شوری محیط همراه است. فعالیت هر سه آنزیم به شدت تحت‌تأثیر افزایش نمک‌های پتاسیم و سدیم قرار می‌گیرد (۲۲).

انتقال محلول‌های سازگار مانند گلایسین بتائین به داخل سیتوپلاسم، از طریق ناقل‌های (Transporters) وابسته به فشار اسمز، نیز می‌تواند سنتز اکتوئین را تحت تأثیر قرار دهد.این که آیا جذب محلول‌های سازگار از خارج سلول باعث تنظیم سنتز اکتوئین در سطح رونویسی و یا تنظیم فعالیت در سطح آنزیم می‌شود مورد توجه پژوهشگران بوده است. نتایج پژوهش‌های گذشته نشان می‌دهد اگرچه نمک و اکتوئین رونویسی از *ectC* را افزایش می دهد اما تاثیر نمک و هیدروکسی اکتوئین خارجی بر رونویسی از روی *ectD* به مراتب بیشتر است (۲۷).

استفاده از اکتوئین به عنوان منبع کربن و انرژی

یک مشخصه بارز میکروارگانیزم‌ها، پتانسیل متابولیکی بالای آن‌هاست. میکروارگانیزم‌ها قادرند تمامی ترکیبات تولیدشده توسط خود باکتری و یا جذب شده از محیط اطراف را به‌عنوان سوخت مصرف کنند. از جمله این مواد می‌توان به اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین اشاره کرد. مصرف اکتوئین به‌عنوان منبع انرژی، کربن و نیتروژن در گونه‌های مختلف میکروبی گزارش شده است. اکتوئین محیطی (که

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

توسط میکروارگانیزم تولیدکننده در محیط خارج سلول رها شده است) در اکوسیستم های مختلف شناسایی شده است. این اکتوئین می‌تواند توسط میکروارگانیزم‌هایی که در آن محیط زندگی می‌کنند جذب و مصرف شود (۲۲).

میکروارگانیزم‌ها می‌توانند این ترکیبات ارزشمند را از میان دیگر مواد شناسایی کرده و به کمک سیستم‌های حمل و نقل کارآمدی که دارند به داخل سلول خود منتقل کنند. وجود ناقل ABC-system EhuABCD در *Sinorhizobium meliloti* (۳۱) و ناقل TRAP transporter UehABC در *R. pomeroyi* (۲۲) گزارش شده است.

از آنجایی که اکتوئین یک ماده مغذی است و به‌طور معمول احتمال حضور آن در محیط پیرامون باکتری‌ها وجود دارد، رونویسی ژن‌های مربوط به ناقل‌های اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین و همچنین ژن‌های مسئول کاتابولیسم آن به شدت کنترل می‌شوند (۳۲).

همچنین به‌دلیل اینکه اکتوئین در غلظت های بسیار پایین در محیط اطراف باکتری ها وجود دارد ترانسپورترهای مسئول جذب آن‌ها باید تمایل (Affinity) بسیار بالایی به این مواد داشته باشند. رونویسی ژن‌های مربوط به این ناقل‌ها توسط سوبسترا القا می‌شوند ولی به‌طور معمول قابلیت القا تحت فشار بالای اسمزی را ندارند (۳۳).

حفاظت از ماکرومولکول‌ها توسط اکتوئین

علاوه بر نقش اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین در کاهش اثرهای ناشی از تنش شوری و کم‌آبی، این مواد می‌توانند سلول را در برابر اثرهای مخرب ناشی از تنش گرمایی، یخ‌زدگی، خشکی، رادیکال‌های اکسیژن، اوره و دیگر عوامل واسرشته‌کننده پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاهای سلولی محافظت کنند (۳۴).

پژوهش‌ها زیادی در زمینه نقش حفاظتی اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین صورت گرفته است از جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

اکتوئین از پروتئین‌های نوترکیب در برابر تجزیه‌شدن، تجمع و متراکم‌شدن آن‌ها، تشکیل ساختمان دوم و سوم غیرطبیعی و یخ‌زدگی محافظت می‌کند (۳۵). نقش

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

حفاظتی اکتوئین از آنتی‌بادی‌ها در برابر تخریب توسط پروتئازها اثبات شده است (۳۶).

ایمونوتوکسین (Immunotoxin) یک پروتئین مصنوعی است که از یک طرف به یک سم و از طرف دیگر به سلول‌های سرطانی متصل می‌شود و پس از ورود به سلول توسط اندوسیتوز باعث کشته شدن سلول سرطانی می‌شود. هیدروکسی اکتوئین از این ترکیب در برابر تخریب ناشی از یخ‌زدگی و آب‌شدن مکرر حفاظت می‌کند (۳۵). اثر مثبت حفاظتی اکتوئین از غشاء سلولی در برابر انواع شوینده‌ها (Surfactants) نیز اثبات شده است (۳۷).

ثبات آنزیم‌ها توسط اکتوئین

کمک به پایداری آنزیم‌ها در دماهای بالا در حضور اکتوئین توسط چندین آزمایش به اثبات رسیده است. از جمله می‌توان به اثر اکتوئین بر آنزیم فیتاز (Phytase) اشاره کرد. فیتاز یک فسفومونواستراز (Phosphomonoesterase) است که با هیدرولیز فیتات (Phytate) موجود در سبوس و غلات، فسفات غیر آلی آن را آزاد می‌کند. این فسفات به‌طور مستقیم توسط حیوان‌های غیرنشخوارکننده مورد استفاده قرار می‌گیرد. با اضافه کردن فیتاز به غذای دام و طیور می‌توان ارزش تغذیه ای آن را بالا برد. در فرایند گرانوله کردن خوراک دام (Feed pelleting) مواد غذایی به کمک دمای ۸۵ درجه سانتیگراد، رطوبت و فشار بالا به قطعات جامد کوچک تبدیل می‌شود، حمل و نقل و استفاده از این قطعات آسان‌تر از حالت پودری است. در طی این عملیات تا بیش از سی درصد آنزیم فیتاز در اثر حرارت بالا غیرفعال می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده که با اضافه کردن اکتوئین نه تنها مقاومت آنزیم در دمای بالا افزایش پیدا می‌کند بلکه قدرت هیدرولیز آنزیم نیز تا ۱۵ درصد اضافه می‌شود (۳۸).

حفظ ساختار دی.ان.اِ توسط اکتوئین

اکتوئین خسارت ناشی از اشعه ماوراء بنفش را در سلول‌های یوکاریوتی کاهش می‌دهد. مطالعات Bünger و همکاران نشان داد که میزان جهش در دی.ان.اِ میتوکندریایی سلول‌های پوست انسان هنگامی که قبل از تابش اشعه ماوراء بنفش (UV-A) در اکتوئین تیمار شده بودند، به

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

میزان قابل‌توجهی در مقایسه با سلول‌های شاهد کمتر بود (۳۹).

مکانیزم محافظت از پروتئین‌ها و غشاها توسط اکتوئین به‌خوبی شناسایی شده است. دلیل آن تمایل پایین اکتوئین برای اتصال به سطح بیومولکول‌ها در مقایسه با مولکول آب است. این تمایل کم باعث ایجاد یک نیروی ترمودینامیکی می‌شود که در افزایش پایداری پروتئین‌ها و غشاها شرکت می‌کند (۹). از طرف دیگر اکتوئین آزادسازی برخی از عوامل التهاب‌زای بوجود آمده توسط اشعه UV را کاهش می دهد (۴۰). علاوه‌بر این فرضیه‌ای وجود دارد مبنی‌بر اینکه بیان ژن‌های پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock proteins) که توسط اکتوئین القا می‌شوند دلیل اصلی محافظت سلول در برابر اشعه UV است (۴۱).

در طی چند دهه گذشته مطالعات زیادی در زمینه اثرهای اکتوئین بر ساختار دی.ان.اِ صورت گرفته است. این مطالعات نشان داد که حضور اکتوئین باعث القا تغییراتی در ساختار دی.ان.اِ می‌شود که در اثر این تغییرات آنزیم‌های اندونوکلئاز قادر به قطعه قطعه کردن آن نخواهند بود (۴۲). همچنین ثابت شده است که حضور اکتوئین در بافر (Polymerase Chain Reaction) باعث افزایش پایداری آنزیم دی.ان.اِ پلیمراز (DNA polymerase) در دماهای بالا و کاهش دمای ذوب (Melting temperature) در دی.ان.اِ دو رشته‌ای غنی از GC می‌شود (۴۳).

ظرفیت درمانی اکتوئین

در مورد خواص درمانی اکتوئین مطالعات زیادی صورت گرفته است که به چند مورد آن اشاره می‌شود. چندین بیماری وجود دارد که عامل اصلی بوجود آورنده آن‌ها تاخوردگی اشتباه (Misfolding) پروتئین‌ها است. تاخوردگی اشتباه پروتئین‌ها باعث انباشته شدن آن‌ها و ایجاد آمیلوئید (Amyloid) می‌شود. آمیلوئیدها مسئول ایجاد بیماری‌هایی مانند آلزایمر هستند. اکتوئین می‌تواند به عنوان یک عامل بازدارنده موثر از تشکیل آمیلوئیدها جلوگیری کرده و باعث بهبود یا درمان این بیماری شود (۴۴). همچنین بیماری یا فارنژیت حاد (Acute Pharyngitis) یک بیماری ویروسی همراه با تورم لوزه، تب و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

سرفه است که با آنتی‌بیوتیک‌ها درمان نمی‌شود. اکتوئین به طور موثری باعث از بین رفتن علائم بیماری در مقایسه با دارو های معمول می‌شود. بیماری التهاب حنجره (Laryngitis) نیز به کمک اکتوئین قابل درمان است. اکتوئین به‌صورت اسپری در درمان این دو بیماری به کار می‌رود و قرمزی و التهاب گلو را به سرعت از بین می‌برد. مکانیزم عمل اکتوئین در درمان این بیماری‌ها همان اثر حذف ترجیحی است که از پیوند بین آب و پروتئین کنار می‌رود و با افزایش خواص پیوند هیدروژنی، اکتوئین یک کپسول آب در اطراف پروتئین‌ها تشکیل می‌دهد. این عمل باعث پایدار شدن ساختمان پروتئین و غشاء سلولی و کاهش التهاب آن‌ها می‌شود (۴۵).

خاصیت درمانی اکتوئین روی بیماری‌های دستگاه گوارش نیز آزمایش شده است. کولیت اولسروز (Ulcerative Colitis) یا UC و بیماری کرون (Crohn's Disease) یا CD جزء بیماری‌های التهابی روده هستند. بیماری CD یک بیماری التهابی است که می‌تواند به‌طور متناوب هر قسمتی از دستگاه گوارش را درگیر کند. این بیماری می‌تواند با تشکیل تومورهای گوشتی به نام گرانولوم (Granuloma) به دنبال تحریک دستگاه ایمنی بدن و انسداد دستگاه گوارش همراه باشد. بیماری UC نیز یک بیماری التهابی مربوط به غشاء مخاطی روده است که به‌طور معمول روده بزرگ و ناحیه مقعد را تحت تاثیر قرار می دهد. هر دو بیماری در اثر یک التهاب مزمن و مکرر توسط پاسخ کنترل‌نشده سیستم ایمنی بدن به آنتی‌ژن‌های میکروفلور روده ایجاد می‌شود. داروهایی که برای درمان این بیماری‌ها بکار می‌رود موجب کاهش پاسخ‌های التهابی، متعادل کردن میکروفلور روده و یا سرکوب تکثیر سلول‌های ایمنی بدن می‌شوند. این داروها متاسفانه دارای عوارض جانبی شدیدی هستند. سرامیدها بیان ژن‌های التهابی را القا می‌کنند. از آنجایی که اکتوئین مانع آزاد شدن سرامیدها (Ceramides) می‌شود بنابراین به عنوان یک عامل ضد التهاب عمل می‌کند. خاصیت درمانی اکتوئین در این دو بیماری روی موش‌ها نتایج مثبتی داشته است. اکتوئین و مشتق سنتتیک آن

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

هموا‌کتوئین تمامیت و یکپارچگی سلول های اپیتلیال روده را حفظ می‌کنند و همچنین مانع التهاب، نفوذ لکوسیت‌ها و تنش‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند. البته اثر هموا‌کتوئین به‌طور معنی داری بیشتر از اکتوئین بوده است (۴۶).

روش‌های درمانی متداول در سرطان ریه شامل شیمی درمانی، پرتو درمانی و جراحی است که هر کدام از این روش‌ها دارای عوارض جانبی نامطلوبی هستند. در سال‌های گذشته استفاده از ترکیبات طبیعی مانند متابولیت‌های گیاهی، قارچی و باکتریایی در درمان این بیماری مورد توجه قرار گرفته است. اثر اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین روی سلول‌های سرطانی بافت ریه نیز مورد بررسی قرار گرفته است. این مطالعات نشان داده که اکتوئین‌ها بدون اینکه عوارض جانبی خاصی روی سلول های سالم داشته باشند مانع رشد سریع سلول‌های سرطانی شده و همچنین عمر آن‌ها را کوتاه می‌کنند. بررسی‌های جدید نشان داده که کشتن سلول‌های سرطانی توسط اکتوئین‌ها از طریق آپاپتوز یا مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده انجام می‌شود (۴۷). مطالعات قبلی نشان داده بود که اکتوئین غشاء سلولی را از آسیب ناشی از شوینده‌ها محافظت می‌کند. آزمایش‌های بعد از آن نشان داد که اگر سطح پوست با امولسیون حاوی اکتوئین تیمار شود خاصیت ضد آبی پوست تقویت شده و آب کمتری را از دست می‌دهد. این خواص از اکتوئین یک مرطوب کننده قوی و موثر با ماندگاری بالا می‌سازد (۸). یکی دیگر از خواص اکتوئین روی پوست، خاصیت ضدپیری آن است. سلول‌های لانگرهانس پوست سلول‌های رابط بین سیستم ایمنی و پوست هستند. تعداد این سلول‌ها در پوست افراد مسن و مخصوصا پوست‌هایی که در معرض نور خورشید قرار داشته‌اند به شدت کاهش می‌یابد. استفاده از اکتوئین به ویژه قبل از قرار گرفتن در معرض نور خورشید از کاهش این سلول‌ها جلوگیری می‌کند. قرار گرفتن سلول‌های تولید کننده کراتین پوست (Keratinocytes) در برابر نور خورشید و به‌ویژه (UVA; 320–400 nm) باعث تشکیل اکسیژن فعال می‌شود. این اکسیژن فعال توسط یک سری واکنش ها منجر به تولید سرامید می‌شود. با

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

افزایش سطح سرامید یک آبشار پیام درون سلولی فعال می‌شود که منجر به واکنش های التهابی می‌شود. استفاده از اکتوئین از تشکیل اکسیژن فعال جلوگیری کرده و در نتیجه مانع التهاب پوست در اثر تابش نور خورشید می‌شود (۴۸).

اکتوئین در غلظت‌های کم مانع سنتز ملانین در سلول‌های پوست می‌شود. از این خاصیت اکتوئین می‌توان در کرم‌های سفیدکننده استفاده کرد (۴۹).

اکتوئین به دلیل داشتن خواصی مانند مرطوب‌کنندگی، جوان‌کنندگی پوست، محافظت در برابر آفتاب و سفیدکنندگی پوست به میزان زیادی در صنعت لوازم آرایشی کاربرد دارد و در مقیاس‌های صنعتی تولید می‌شود.

استفاده از باکتری‌های تولیدکننده اکتوئین در کشاورزی

گونه‌های جنس *Streptomyces* متشکل از باکتری‌های گرم مثبتی است که توانایی زیادی برای زنده ماندن در محیط‌های نامناسب مانند خاک شور را دارند. تولید اکتوئین توسط این باکتری‌ها در شرایط تنش به‌ویژه غلظت های بالای نمک گزارش شده است (۲۷). تعدادی از گونه‌های این جنس به‌عنوان PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) یا باکتری‌های محرک رشد گیاهی مستقر در فضای اطراف ریشه گزارش شده‌اند (۵۰، ۵۱، ۵۲). این باکتری ها علاوه بر ارتقا رشد گیاهان می‌توانند با کنترل بیماری‌های گیاهی نقش مهمی را در کشاورزی پایدار ایفا کنند (۵۳، ۵۴).

به‌عنوان مثال می‌توان به قارچ ناقصی با نام *Phytophthora drechsleri* که یک پاتوژن گیاهان زراعی است و سالانه خسارت قابل توجهی به کشاورزان وارد می‌کند اشاره کرد. امروزه برای مقابله با این قارچ از آفت‌کش‌های شیمیایی مانند ریدومیل (Ridomil®) استفاده می‌شود. استفاده گسترده از این قارچ‌کش بویژه در محصولات گلخانه‌ای باعث ایجاد گونه‌های مقاوم به این قارچ‌کش شده است. مطالعه‌ای که در این زمینه انجام شده نشان داد که گونه‌هایی از *Streptomyces* قادر به سرکوب و کنترل این بیمارگر هستند. استفاده از این گونه‌ها به تنهایی یا مخلوط با آفت‌کش‌های شیمیایی علاوه بر

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

جلوگیری از ایجاد گونه‌های مقاوم، به جلوگیری از آلودگی بیشتر محیط زیست نیز کمک می‌کند (۵۲). اثرات محرک رشدی برخی از گونه‌های *Streptomyces* تحت شرایط تنش شوری و کم‌آبی روی تیره نعناعیان آزمایش شده است. نتایج این آزمایش‌ها نشان داد که افزودن این سویه‌ها به گیاه در شرایط عادی و تحت تنش کم آبی موجب افزایش رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی اسانس آن شد (۵۵).

پاسخ *Streptomyces* به تنش شوری همراه با تجمع محلول‌های سازگار مانند اکتوئین است. این تجمع می‌تواند یا بر اثر ساخته شدن اکتوئین و هیدروکسی‌اکتوئین از پیش‌سازهای آن یا در اثر جذب این مواد از محیط اطراف باشد (۵۶). اثر مثبت استفاده از این میکروارگانیزم‌ها روی رشد گیاه گندم نیز ثابت شده است (۵۷). همچنین اثر مثبت اکتوئین و هیدروکسی اکتوئین بر افزایش مهار دو قارچ خاکزاد مهم *Fusarium solani* و *P. drechsleri* توسط باکتری‌های آنتاگونیست از جنس *Pseudomonas* به ویژه در حضور نمک گزارش شده است (۵۸).

فرآیند تولید اکتوئین

خواص اکتوئین از آن یک ماده ایده‌آل حفاظتی در صنایع آرایشی بهداشتی، دارویی ساخته است. اکتوئین را می‌توان به صورت شیمیایی تولید کرد اما به دلیل گران بودن پیش‌سازهای آن، این کار در ابعاد صنعتی امکان‌پذیر نیست. در حال حاضر از باکتری‌های نمک‌دوست مانند *Halomonas elongata* به‌منظور تولید صنعتی اکتوئین استفاده می‌شود. قرن‌هاست که در خاور دور از میکروارگانیزم‌های نمک‌دوست در تخمیر مواد غذایی، طعم دهنده‌های غذایی و بتاکاروتن استفاده می‌شود (۵۹).

تولید صنعتی اکتوئین به روش شیردوشی زیستی (Bio-milking) انجام می‌شود که شامل تخمیر به‌صورت فیدبچ (Fed-batch) طولانی در غلظت‌های مختلف NaCl است. ابتدا *H.elongata* را در محیط کشت با غلظت کم نمک کشت می دهند تا به تراکم بالایی از سلول برسد. سپس سلول‌ها را به محیط کشت با غلظت بالای نمک منتقل می‌کنند تا بیوسنتز اکتوئین القا شود. در مرحله آخر نیز با کم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

کردن غلظت نمک محیط کشت، سلول‌ها را در معرض یک شوک نمکی قرار می دهند تا باعث ترشح اکتوئین تولید شده از درون سلول به محیط کشت شود. سپس اکتوئین جمع‌آوری و خالص می‌شود. با این وجود به دلیل نیاز به یک منبع کربن با کیفیت بالا (اغلب گلوکز، مخمر و سدیم گلوتامات) این مسیر نیز تا حدودی گران تمام می‌شود (۹، ۶۰).

اکتوئین آزاد شده به کمک روش فیلتراسیون از محیط کشت جدا شده و سپس به کمک کروماتوگرافی و در نهایت به کمک کریستالیزاسیون خالص می‌شود. بعد از فیلتر کردن محیط کشت سلول‌های باکتری جدا شده دوباره به محیط کشت حاوی ده درصد نمک برگشته تا اکتوئین تولید کنند. این فرایند طی ده ساعت می تواند دوباره تکرار شود (۶۱).

میکروارگانیزم‌ها تا جایی که بتوانند از ساخت محلول‌های سازگار پرهیز کرده و آن‌ها و یا مواد پیش‌ساز آن‌ها را از محیط اطراف خود جذب می‌کنند. میکروارگانیزم ها برای جذب این مواد به مجموعه‌ای از ناقل‌های خاص مجهز هستند. انتقال محلول‌های سازگار از محیط اطراف بسیار اقتصادی‌تر و به صرفه‌تر از ساخت آن‌ها از ابتدا در سلول است. از میان این مجموعه ناقل‌های Tripartite ATP-independent Periplasmic Transporter (TRAP-T) TeaABC عمومی‌تر است و در بیشتر باکتری‌ها و آرکی‌ها وجود دارد. این ناقل‌ها از نوع ثانویه هستند و برای انتقال مواد نیازی به هیدرولیز ATP نداشته و یون‌های Na^+ با محلول‌های سازگار به صورت همزمان منتقل می‌شوند. ناقل دیگری با نام TeaABCD نیز وجود دارد که از یک طرف در معرض محیط حاوی غلظت بالای نمک قرار دارد و از طرف دیگر در ارتباط با سیتوپلاسم سلول است. این شرایط نظریه‌ای را مطرح می‌کند مبنی بر اینکه این سیستم به عنوان یک حسگر برای تغییرات اسمزی عمل می‌کند. این فرضیه در مورد تمام ناقل‌های محلول‌های سازگار صدق می‌کند. علاوه بر این ناقل‌های محلول‌های سازگار باید به صورت مستقیم یا غیرمستقیم در ارتباط با سنتز درون‌سلولی این مواد باشند. این

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

ارتباط باعث می‌شود در صورت جذب محلول‌های سازگار از محیط خارج سلول توسط ترانسپورترها، ساخت درون‌سلولی این مواد کاهش یابد. در برخی از باکتری ها این ناقل‌ها نه تنها مسئول جذب محلول‌های سازگار از محیط خارج سلول هستند بلکه در شرایط خاص (بروز شوک اسمزی در اثر باران یا سیل) این مواد را از داخل سیتوپلاسم به محیط بیرون آزاد می کنند. این موضوع در مورد *H. elongata* نیز صادق است. جهش ناقل TeaABC با نام ΔteaC باعث ایجاد سویه جهش‌یافته‌ای می‌شود که اکتوئین تولیدشده در سیتوپلاسم را به محیط کشت ترشح می کند. این روش جهش نشتی (Leaky mutant) نام دارد (۶۲).

طی بررسی‌های انجام گرفته سویه جهش یافته در ناقل TeaABC نه تنها باعث آزاد شدن اکتوئین از سیتوپلاسم می‌شود بلکه میزان تولید اکتوئین نیز در آن به میزان قابل توجهی بالاست. استفاده از این فرم جهش‌یافته *H. elongata* برای تولید اکتوئین در مقیاس صنعتی نسبت به روش شیردوشی زیستی مزیت‌های زیادی دارد. از جمله می‌توان به ساده‌تر شدن مراحل تولید و خالص‌سازی اکتوئین اشاره کرد بدین صورت که نیازی به ایجاد تغییر در غلظت نمک برای ایجاد شوک اسمزی نیست. همچنین نیازی به فیلتر کردن سلول های باکتری از محصولات تولیدی و برگرداندن آن‌ها به فرمانتور نیست (۹).

دورنمایی از تولید اکتوئین

امروزه برای تولید اکتوئین به صورت صنعتی از دو روش شیردوشی زیستی و جهش نشتی استفاده می‌شود. این دو روش عیب‌هایی نیز دارند. به عنوان مثال نمک فراوانی که برای القا تولید اکتوئین به کار می‌رود روی دستگاه‌های مورد استفاده تاثیر نامطلوب دارد. پژوهشگران در حال توسعه روشی هستند که در آن از روش نفوذ پذیری سلولی برای استخراج اکتوئین استفاده می‌شود. این روش آسیب کمتری به محیط زیست وارد می‌کند (۶۳).

بهبود روش شیردوشی زیستی و پژوهش و بررسی روی گونه‌هایی که اکتوئین را به خارج سلول ترشح می‌کنند نیز در حال انجام است (۶۰).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

به‌علاوه گونه‌های مورد استفاده در این روش‌ها باید توانایی رشد تا رسیدن به چگالی بالای سلولی را داشته باشند هر چند بهینه‌سازی برای تولید در سطح صنعتی کار دشواری است. همچنین خالص سازی نیز فرآیند زمان‌بر و پر هزینه‌ای است. پژوهش برای یافتن سویه‌های جدید تولیدکننده اکتوئین با خصوصیات بهتر و همچنین توسعه مهندسی ژنتیک برای تولید سویه‌هایی با نیاز به غلظت کمتر نمک و پر محصول‌تر ادامه دارد. همچنین پژوهش‌ها برای تولید سویه‌هایی که از منابع ارزان‌تر کربن (مانند CO_2 و CH_4) استفاده کنند و از آلودگی بیشتر محیط‌زیست جلوگیری می‌کنند نیز مورد توجه پژوهشگران است.

استفاده از روش‌های تجزیه و تحلیل جدید برای مدل‌سازی فرایندهای دخیل در تولید این مواد در سلول‌های باکتریایی یا زیست شناسی سیستم‌ها (Systems Biology) می تواند برای تولید مقرون به صرفه این مواد کمک کند. مدل‌های متابولیکی که فعالیت سویه‌ها را شرح می‌دهند می‌توانند اساس شناسایی راهکارهای بهینه‌سازی باشند. با یک مدل ترکیبی از دو سطح ماکروسکوپیک (رآکتور) و سطح میکروسکوپیک (سوخت‌وساز مولکولی) و ایجاد یک ارتباط بین این دو می‌توان تولید را افزایش داد. به منظور توسطه روش‌های جدید و بهینه‌سازی عملکرد، راهکارهای جدیدی باید طراحی شود (۶۴).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

References **فهرست منابع**

1. Logares R., Bråte J., Bertilsson S., Clasen J.L., Shalchian-Tabrizi K. and Rengefors K.J.Tim. (2009). Infrequent marine–freshwater transitions in the microbial world. Trends in Microbiology. 17:414-422.

2. Oren A. (2002). Halophilic microorganisms and their environments. Dordrecht: Kluwer Scientific Publishers.

3. Bolhuis A., Kwan D. and Thomas J.R. (2008). Halophilic adaptations of proteins. In: Siddiqui KS, Thomas T, editors. Protein adaptation in extremophiles. Nova Science Publishers Inc USA; New York. 71–104.

4. Boetius A. and Joye S. (2009). Thriving in salt. Science 324:1523-1525.

5. DasSarma P., Coker J., Huse V. and DasSarma S. (2010). Halophiles, industrial applications. Encyclopedia of industrial biotechnology: bioprocess, bioseparation, and cell technology. John Wiley and Sons, Inc, Hoboken, NJ.

6. Oren A. (2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. Saline Systems 4:2.

7. Waditee-Sirisattha R., Kageyama H. and Takabe T. (2016). Halophilic microorganism resources and their applications in industrial and environmental biotechnology. Microbiology. 2: 42-54.

8. Graf R., Anzali S., Buenger J., Pfluecker F. and Driller H. (2008). The multifunctional role of ectoine as a natural cell protectant. Clinics in Dermatology. 26:326-333.

9. Kunte H.J., Lentzen G. and Galinski E. (2014). Industrial production of the cell protectant ectoine: protection mechanisms, processes, and products. Current Biotechnology. 3: 10-25.

10. Galinski E.A., Pfeiffer H.P. and Trüper H.G. (1985). 1, 4, 5, 6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid. A novel cyclic amino acid from halophilic phototrophic bacteria of the genus Ectothiorhodospira. European Journal of Biochemistry. 149:135-139.

11. Sydlik U., Gallitz I., Albrecht C., Abel J., Krutmann J. and Unfried K. (2009). The compatible solute ectoine protects against nanoparticle-induced neutrophilic lung inflammation. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 180:29-35.

12. Ciulla R.A., Burggraf S., Stetter K.O. and Roberts M.F. (1994). Occurrence and role of di-myo-inositol-1, 1′-phosphate in Methanococcus igneus. Applied and Environmental Microbiology. 60:3660-3664.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

13. Motta A., Romano I. and Gambacorta A. (2004). Rapid and sensitive NMR method for osmolyte determination. Journal of Microbiological Methods. 58:289-294.

14. Riis V., Maskow T. and Babel W. (2003). Highly sensitive determination of ectoine and other compatible solutes by anion-exchange chromatography and pulsed amperometric detection. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 377:203-207.

15. Galinski E.A. (1995). Osmoadaptation in bacteria. In: Advances in microbial physiology. Academic Press, London, England. 273–328.

16. Doronina N.V., Trotsenko Y.A. and Tourova T.P. (2000). *Methylarcula marina* gen. nov., sp. nov. and *Methylarcula terricola* sp. nov.: novel aerobic, moderately halophilic, facultatively methylotrophic bacteria from coastal saline environments. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50:1849-1859.

17. Czech L., Hermann L., Stöveken N., Richter A.A., Höppner A., Smits S.H.J., Heider J. and Bremer E. (2018). Role of the extremolytes ectoine and hydroxyectoine as stress protectants and nutrients: genetics, phylogenomics, biochemistry, and structural analysis. Genes. 9(4). pii: E177.

18. Inbar L., Frolow F. and Lapidot A. (1993). The conformation of new tetrahydropyrimidine derivatives in solution and in the crystal. European Journal of Biochemistry. 214:897-906.

19. Onraedt A., Walcarius B., Soetaert W. and Vandamme E.J. (2003). Dynamics and optimal conditions of intracellular ectoine accumulation in Brevibacterium sp. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences. 68:241-246.

20. Regev R., Peri I., Gilboa H. and Avi-Dor Y. (1990). 13C NMR study of the interrelation between synthesis and uptake of compatible solutes in two moderately halophilic eubacteria: bacterium Ba1 and *Vibro costicola*. Archives of Biochemistry and Biophysics. 278:106-112.

21. Yu I., Jindo Y. and Nagaoka M. (2007). Microscopic understanding of preferential exclusion of compatible solute ectoine: direct interaction and hydration alteration. The journal of Physical Chemistry 111:10231-10238.

22. Ono H., Sawada K., Khunajakr N., Tao T., Yamamoto M., Hiramoto M., Shinmyo A., Takano M. and Murooka Y. (1999). Characterization of biosynthetic enzymes for ectoine as a compatible solute in a moderately halophilic eubacterium, *Halomonas elongata*. Journal of Bacteriology. 181:91-99.

23. Lo C.C., Bonner C.A., Xie G., D'Souza M. and Jensen R.A. (2009). Cohesion group approach for evolutionary analysis of aspartokinase, an enzyme that feeds a branched network of many biochemical pathways. Microbiology and Molecular Biology reviews. 73:594-651.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

24. Sadeghi A., Soltani B.M., Nekouei M.K., Jouzani G.S., Mirzaei H.H. and Sadeghizadeh M. (2014a). Diversity of the ectoines biosynthesis genes in salt tolerant Streptomyces and evidence for inductive effect of ectoines on their accumulation. Microbiological Research. 169: 699-708.

25. Bursy J., Pierik A.J., Pica N. and Bremer E. (2007). Osmotically induced synthesis of the compatible solute hydroxyectoine is mediated by an evolutionarily conserved ectoine hydroxylase. The Journal of Biological Chemistry. 282:31147-31155.

26. Kuhlmann A.U. and Bremer E. (2002). Osmotically regulated synthesis of the compatible solute ectoine in *Bacillus pasteurii* and related *Bacillus* spp. Applied and Environmental Microbiology. 68:772-783.

27. Sadeghi A., Soltani B.M., Jouzani G.S., Karimi E., Nekouei M.K. and Sadeghizadeh, M. (2014b). Taxonomic study of a salt tolerant *Streptomyces* sp. strain C-2012 and the effect of salt and ectoine on lon expression level. Microbiological Research. 169: 232-238.

28. Schwibbert K., Marin-Sanguino A., Bagyan I., Heidrich G., Lentzen G., Seitz H., Rampp M., Schuster S.C., Klenk H.P., Pfeiffer F., Oesterhelt D., Kunte H.J. (2011). A blueprint of ectoine metabolism from the genome of the industrial producer Halomonas elongata DSM 2581T. Environmental Microbiology. 13:1973-1994.

29. Martínez M., Palacios J.M., Imperial J. and Ruiz-Argüeso T. (2004). Symbiotic Autoregulation of nifA Expression in Rhizobium leguminosarumbv. viciae. Journal of Bacteriology. 186: 6586–6594.

30. Wolf A., Krämer R. and Morbach S. (2003). Three pathways for trehalose metabolism in *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 and their significance in response to osmotic stress. Molecular Microbiology. 49:1119-1134.

31. Jebbar M., Sohn-Bösser L., Bremer E., Bernard T. and Blanco C. (2005). Ectoine-induced proteins in Sinorhizobium meliloti include an ectoine ABC-type transporter involved in osmoprotection and ectoine catabolism. Journal of Bacteriology. 187:1293-304.

32. Lecher J., Pittelkow M., Zobel S., Bursy J., Bönig T., Smits S.H., Schmitt L. and Bremer E. (2009). The crystal structure of UehA in complex with ectoine-A comparison with other TRAP-T binding proteins. Journal of Molecular Biology. 389:58-73.

33. Rice A.J., Park A. and Pinkett H.W. (2014). Diversity in ABC transporters: type I, II and III importers. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 49:426-437.

34. Lentzen G. and Schwarz T. (2006). Extremolytes: natural compounds from

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

extremophiles for versatile applications. Applied Microbiology and Biotechnology. 72:623-634.

35. Barth S., Huhn M., Matthey B., Klimka A., Galinski E.A. and Engert A. (2000). Compatible-solute-supported periplasmic expression of functional recombinant proteins under stress conditions. Applied and environmental microbiology 66:1572-1579.

36. Bersch S., Vangala M., Schwarz T. and Kaufmann M. (2000). Protection of antibodies against proteolytic degradation by compatible solutes. In: 2nd international conference on protein stabilisation/biomolecule stabilisation, Lissabon, 2000.

37. Bunger J. (1999). Ectoin added protection and care for the skin. Europian Cosmetics 7:22-24.

38. Zhang L., Wang Y., Zhang C., Wang Y., Zhu D., Wang C. and Nagata S. (2006). Supplementation effect of ectoine on thermostability of phytase. 102:560-563.

39. Bünger J., Degwert J., Driller H. (2001). The protective function of compatible solute ectoine on the skin cells and its biomolecules with respect to UV-radiation, immunosuppression and membrane damage. IFSCC Magazine. 4, 1–6.

40. Buenger J. and Driller H. (2004). Ectoin: an effective natural substance to prevent UVA-induced premature photoaging. Skin Pharmacology and Physiology. 17:232-237.

41. Botta C., Di Giorgio C., Sabatier A.S. and De Méo M. (2008). Genotoxicity of visible light (400–800 nm) and photoprotection assessment of ectoin, L-ergothioneine and mannitol and four sunscreens. Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology. 91:24-34.

42. Malin G., Iakobashvili R. and Lapidot A. (1999). Effect of tetrahydropyrimidine derivatives on protein-nucleic acids interaction Type II Restriction endonucleases as a model system. The Journal of Biological Chemistry. 274:6920-6929.

43. Lapidot A., Ben-Asher E. and Eisenstein M. (1995). Tetrahydropyrimidine derivatives inhibit binding of a Tat-like, arginine-containing peptide, to HIV TAR RNA in vitro. FEBS letters. 367:33-38.

44. Arora A., Ha C. and Park C.B. (2004). Inhibition of insulin amyloid formation by small stress molecules. FEBS letters. 564:121-125.

45. Müller D., Lindemann T., Shah-Hosseini K., Scherner O., Knop M., Bilstein A. and Mösges R. (2016). Efficacy and tolerability of an ectoine mouth and throat spray compared with those of saline lozenges in the treatment of acute pharyngitis and/or laryngitis: a prospective, controlled, observational clinical trial. European Archives of Otorhinolaryngology. 273:2591-2597.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

46. Castro-Ochoa K.F., Vargas-Robles H., Chánez-Paredes S., Felipe-López A., Cabrera-Silva R.I., Shibayama M., Betanzos A., Nava P., Galinski E.A. and Schnoor M. (2019). Homoectoine protects against colitis by preventing a claudin switch in epithelial tight junctions. American Journal of Digestive Diseases. 64:409-420.

47. Sheikhpour M., Sadeghi A., Yazdian F., Movafagh A. and Mansoori A. (2019). Anticancer and apoptotic effects of ectoine and hydroxyectoine on non-small cell lung cancer cells: an in-vitro investigation. Multidisciplinary Cancer Investigation. 3:14-19.

48. Grether-Beck S., Timmer A., Felsner I., Brenden H., Brammertz D. and Krutmann J. (2005). Ultraviolet A-induced signaling involves a ceramide-mediated autocrine loop leading to ceramide de novo synthesis. The Journal of Investigative Dermatology. 125:545-553.

49. Yao C.L., Lin Y.M., Mohamed M.S. and Chen J.H. (2013). Inhibitory effect of ectoine on melanogenesis in B16-F0 and A2058 melanoma cell lines. Biochemical Engineering Journal. 78:163-169.

50. El-Tarabily K.A. (2008). Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete. Plant and Soil. 308:161-174.

51. Sadeghi A., Hesan A.R., Askari H., Naderi Qomi D., Farsi M. and Majidi Hervan E. (2009). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping off of sugar beet with native Streptomyces strains under field conditions. Biocontrol Science and Technology. 19: 985-991.

52. Sadeghi A., Koobaz P., Azimi H., Karimi E. and Akbari A.R. (2017). Plant growth promotion and suppression of *Phytophthora drechsleri* damping-off in cucumber by cellulase-producing Streptomyces. BioControl. 62:805-819.

53. Karimi E., Sadeghi A., Dahaji P.A., Dalvand Y., Omidvari M. and Kakuei Nezhad M. (2012). Biocontrol activity of salt tolerant Streptomyces isolates against phytopathogens causing root rot of sugar beet. Biocontrol Science and Technology. 22:333-349.

54. Abbasi S., Safaie N., Sadeghi A. and Shamsbakhsh M. (2019). Streptomyces strains induce resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici race 3 in tomato through different molecular mechanisms. Frontiers in Microbiology. 10:1505.

55. Esmaeil Zade N.S., Sadeghi A. and Moradi P. (2019). Streptomyces strains alleviate water stress and increase peppermint (*Mentha piperita*) yield and essential oils. Plant and Soil. 434: 441–452.

56. Bursy J., Kuhlmann A.U., Pittelkow M., Hartmann H., Jebbar M., Pierik A.J. and Bremer E. (2008). Synthesis and uptake of the compatible solutes ectoine and 5-

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

hydroxyectoine by *Streptomyces coelicolor* A3 (2) in response to salt and heat stresses. Applied and Environmental Microbiology. 74:7286-7296.

57. Akbari A.R., Gharanjik S., Koobaz P., Karimi E. and Sadeghi A. (2016). Evaluation of mutual effect of ectoine(s) producing Streptomyces and wheat at salt conditions. Crop Biotechnology. 13: 57-68 (In Farsi).

58. Kamaly A., Ahmadzadeh M., Sadeghi A. and Karimi E. (2016). Effect of exogenous ectoines on some antifungal activity of *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 under salt conditions. Biological Journal of Microorganism. 17:35-48 (In Farsi).

59. Kamekura M., Hamakawa T. and Onishi H. (1982). Application of halophilic nuclease H of *Micrococcus varians* subsp. halophilus to commercial production of flavoring agent 5'-GMP. Applied and Environmental Microbiology. 44:994-995.

60. Zhang L.H., Lang Y.J. and Nagata S. (2009). Efficient production of ectoine using ectoine-excreting strain. Extremophiles. 13:717-724.

61. Oren A. (1999). Bioenergetic aspects of halophilism. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 63:334-348.

62. Grammann K., Volke A. and Kunte H.J. (2002). New type of osmoregulated solute transporter identified in halophilic members of the bacteria domain: TRAP transporter TeaABC mediates uptake of ectoine and hydroxyectoine in *Halomonas elongata* DSM 2581T. Journal of Bacteriology. 184:3078-3085.

63. Schiraldi C., Maresca C., Catapano A., Galinski E.A. and De Rosa M. (2006). High-yield cultivation of *Marinococcus* M52 for production and recovery of hydroxyectoine. Research in Microbiology. 157:693-699.

64. Pastor J.M., Salvador M., Argandoña M., Bernal V., Reina-Bueno M., Csonka L.N., Iborra J.L., Vargas C., Nieto J.J. and Cánovas M. (2010). Ectoines in cell stress protection: uses and biotechnological production. Biotechnology advances. 28:782-801.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]

Introducing Ectoine as Compatible Solute: Biosynthetic Pathway, Production and Applications

Arghavan Kamaly[1], Maryam Sadeghi[2], Akram Sadeghi[3*]

1- PhD in Biological Control of Plant Disease, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2- MSc in Biochemistry, Molecular Bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC), ACECR, Tehran, Iran
3- Assistant Professor of Molecular Genetics, Department of Microbial Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

aksadeghi@abrii.ac.ir

Abstract:

Halophilic microorganisms cope with environmental stresses by producing and accumulating compatible solutes. Ectoine is one of the most important members of compatible solutes which have extra protective properties compared to other compatible solutes. Ectoine attracts several scientific and commercial attention because of their multiple industrial applications. This brief review presents applications of ectoine as protectants of proteins that can be explained by the preferential exclusion model. Also, other application of ectoine as an enzyme stabilizer and drug for various diseases have also been reviewed. Further, the role of ectoine in stabilizing macromolecules and even whole cells against UV radiation, freezing, drying and high temperatures is briefly described. The ectoine biosynthesis genes are located in cluster ectABC. This paper also briefly described the regulation of these genes under environmental conditions. There are currently two technologies for producing ectoine called bacterial bio-milking and leaky mutant. Several tons of ectoine are produced each year using these methods. Finally, the limitations of the methods are mentioned.

Keywords: Bio-milking, Compatible Solute, Ectoine, Halophilic Microorganisms, Leaky Mutant.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1398.12.3.2.9]