



NAPREDNI NAČINI IZRABE POTENCIALA SIROTKE: PREHOD IZ OKOLJSKEGA PROBLEMA V DRAGOCEN NARAVNI VIR



Protimikrobna aktivnost peptidov, pridobljenih z encimsko hidrolizo laktoferina

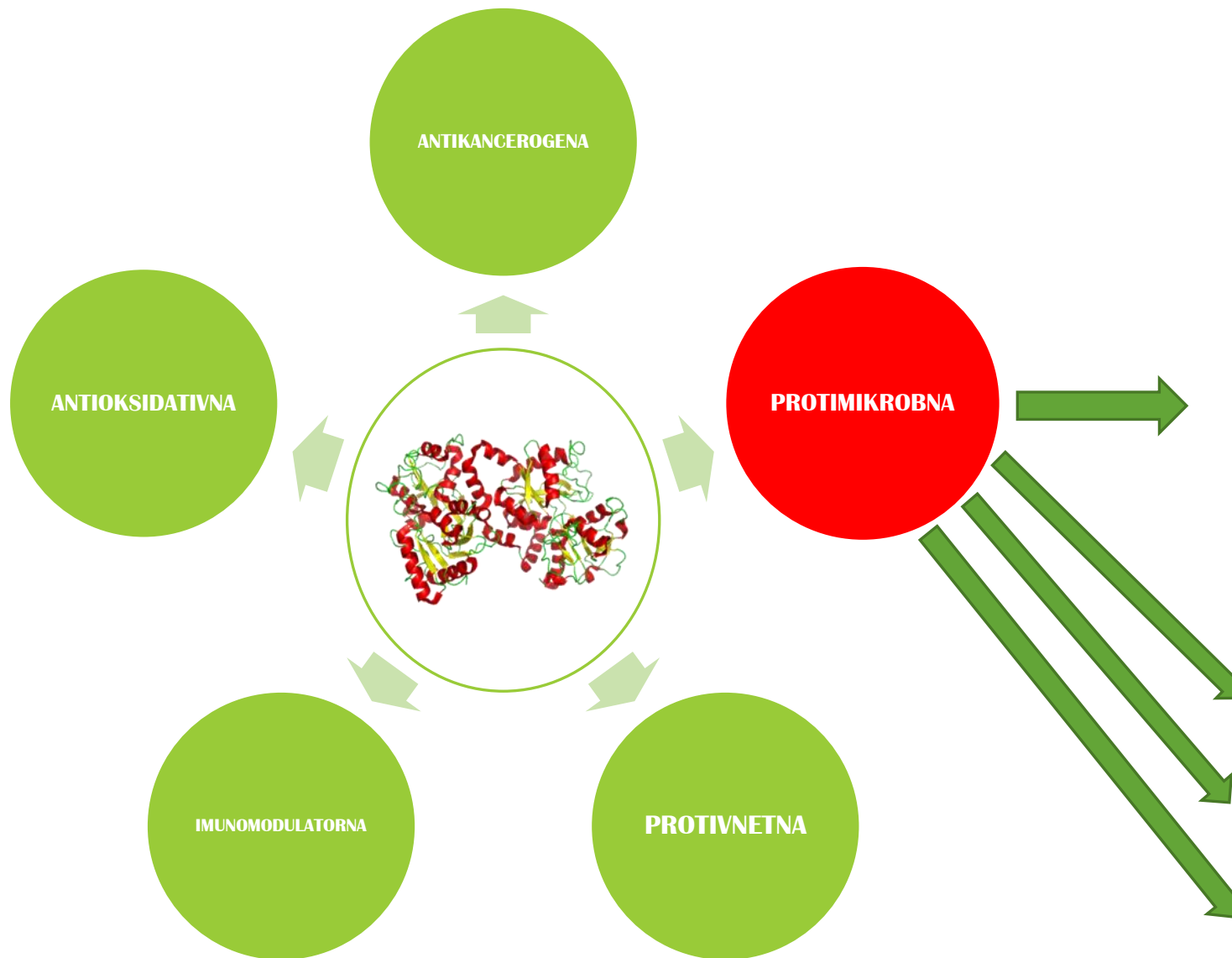
Špela Gruden¹, Petra Mohar Lorbeg², Bojana Bogovič Matijašič², Nataša Poklar Ulrih¹

¹Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Katedra za biokemijo in kemijo živil

²Biotehniška fakulteta, Inštitut za mlekarstvo in probotike

Institucija

LAKTOFERIN

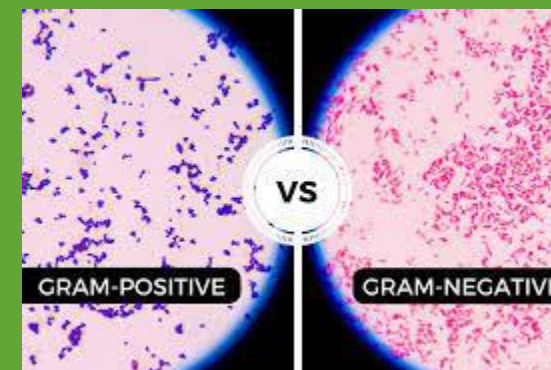


PROTIBAKTERIJSKO DELOVANJE

BAKTEROSTATIČNO: vezava železovih ionov; odvzem tega nutrienta bakterijam

BAKTERICIDNO: direktno delovanje na bakterijsko membrano oziroma celično steno

PROTI ŠTEVILNIM PO GRAMU-POZITIVNIM IN GRAMU-NEGATIVNIM BAKTERIJAM



PROTIVIRUSNO DELOVANJE

PROTIGLIVIČNO DELOVANJE

PROTIPARAZITARNO DELOVANJE

PROTIMIKROBNI PEPTIDI & PEPTIDI LAKTOFERINA

Protimikrobni peptidi so znani že več desetletij

skupne so jim nekatere lastnosti

hidrofobnost (30% hidrofobnih aminokislinskih ostankov)

majhni (10-50 aminokislinskih ostankov)

pozitiven naboj (običajno +2 do +9)

- 1991: Z encimsko hidrolizo laktoferina s pepsinom pridobijo hidrolizate, kateri imajo boljšo protimikrobno aktivnost kot laktoferin
- istega leta izolirajo peptid z boljšo protimikrobno aktivnostjo kot laktoferin, imenovan laktofericin (Lf-cin)
- sledijo številne študije različnih raziskovalnih skupin in odkritje novih laktoferinskih peptidov
- proizvodnja sintetičnih laktoferinskih peptidov: laktoferampin (Lf-ampin) & Lf-himera

PEPTIDI LAKTOFERINA

❖ Lf-cin (17-41 aminokislinskih ostankov)

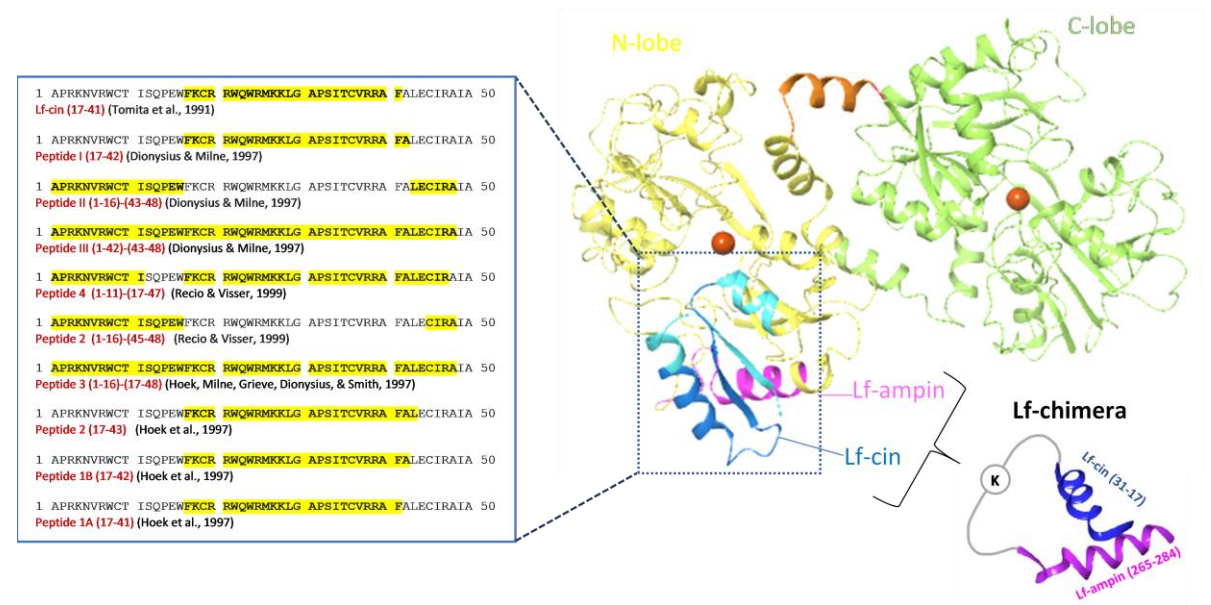
❖ Lf-cin (in tudi ostali izolirani peptidi) se nahajajo na N-terminalnem delu laktoferina

Laktofericin ima številne funkcije:

- PROTIMIKROBNA (protibakterijska, protivirusna, protiglivična in protiparazitarna)
- ANTIKANCEROGENA
- Deluje proti številnim po Gramu pozitivnim in Gramu negativnim bakterijam

❖ Številne študije preučevanje mehanizma protimikrobne aktivnosti laktoferinskih peptidov ter povezave med strukturo peptidov in izražanjem njihove protimikrobne aktivnosti (določanje aktivnih domen)

❖ Ugotovili, da mora struktura Lf-cin za protimikrobno delovanje vsebovati : najmanj 11 aminokislinskih ostankov (aminokislinski ostanki od 20-30 govejega laktoferina), naboj 5+, najmanj 2 triptofanska aminokislinska ostanka itd.



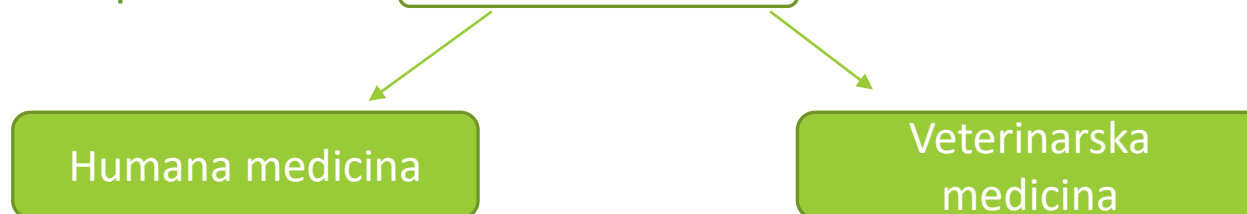
Lf-ampin: sintetičen protimikrobni peptid, z aminokislinskim zaporedjem, ki ustreza aminokislinskim ostankom laktoferina od 268 do 284

Lf-himera: sintetičen protimikrobni peptid sestavljeni iz Lf-cina in Lf-ampina; ima boljše protimikrobno delovanje kot Lf-cin ali Lf-ampin

POMEN LAKTOFERINSKIH PEPTIDOV

❖ nekateri izmed teh peptidov nastajajo naravno v procesu prebave v prebavnem traktu in posledično vplivajo na raznovrstnost bakterij v črevesju

❖ Naraščanje števila bakterij, ki so odporne na znane antibiotike  laktoferinski peptidi predstavljajo velik potencial kot **naravni antibiotik**

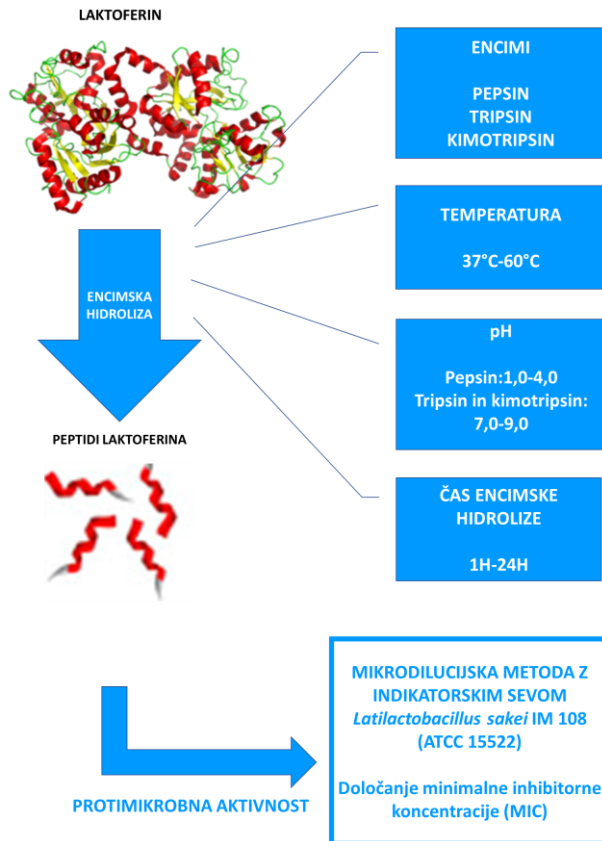


❖ Sinergistično delovanje laktoferina in njegovih peptidov z antibiotiki

❖ Preučevanje njegovih strukturno-funkcijskih značilnosti lahko omogoča razvoj novih sintetičnih protimikrobnih peptidov

CIJ naše študije: pridobivanje novih laktoferinskih peptidov, ki bi imeli boljšo protibakterijsko aktivnost kot laktoferin sam

METODE



REZULTATI

Vzorci	Pogoji encimske hidrolize	MIC (mg/ml)
Laktoferin	/	0,016
Pepsinski hidrolizati	pH 3,0; 37°C/4h	0,08
Pepsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 3,0; 37°C/4h	0,016
Tripsinski hidrolizati	pH 3,0; 37°C/4h	0,08
Tripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 8,0; 37°C/4h	0,0032

Vzorci	Pogoji encimske hidrolize	MIC (mg/ml)
Laktoferin	/	2,5
Tripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 8,0; 37°C/4h	1,25
Tripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 7,0; 37°C/4h	>10
Tripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 7,8; 37°C/4h	>10
Tripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 9,0; 37°C/4h	>10
Tripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 8,0; 37°C/2h	>10
Tripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 8,0; 37°C/24h	>10

Vzorci	Pogoji encimske hidrolize	MIC (mg/ml)
Laktoferin	/	0,63
Kimotripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 8,0; 37°C/4h	0,08
Kimotripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 9,0; 37°C/4h	>10
Kimotripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 8,0; 50°C/4h	0,63
Kimotripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 9,0; 50°C/4h	>10
Kimotripsinski peptidi (10-50 kDa)	pH 8,0; 60°C/1h	0,63

HVALA ZA POZORNOST!

