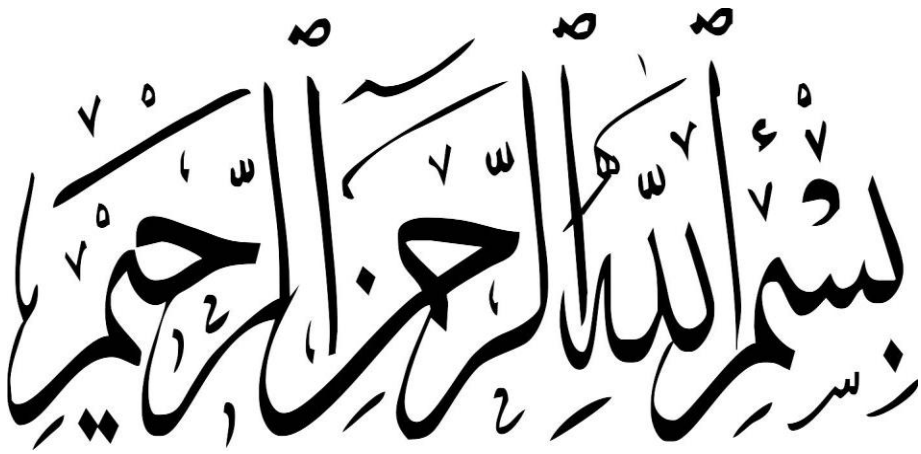

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم
گروه شیمی

پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد بیوشیمی

عنوان:

استخراج و خالص‌سازی پپتیدهای ضد میکروبی از ترشحات پوستی قورباغه بلوچی (*Euphlyctis Cyanophlyctis*)

استاد راهنما:

دکتر احمد آسوده

استاد مشاور:

دکتر جمشیدخان چمنی

نگارش:

عادل قرانی اعظم

زمستان۸۹

چکیده

امروزه یکی از مشکلاتی که در زمینه بروز بیماری‌های جدید در بیماران مختلف مطرح است، مقاومت آن‌ها به آنتی بیوتیک‌های رایج در درمان بیماری‌ها است. بنابراین پیدا کردن آنتی بیوتیک‌های جدید با قدرت بالاتر و نیز با کمترین عوارض جانبی ضروری به نظر می رسد. در این بین پپتیدهای ضد میکروبی با منشاء طبیعی می توانند به عنوان جانشین مناسبی برای این آنتی بیوتیک‌ها در نظر گرفته شوند. این پپتیدها به عنوان یکی از مهمترین بخش‌های سیستم ایمنی در مقابله با آلودگی‌های بیماریزای باکتریایی، انگلی و ویروسی است. در این مطالعه ما به بررسی پپتیدهای ضد میکروبی مترشحه از پوست قورباغه بلوچی می‌پردازیم. این گونه از قورباغه در جنوب شرق ایران یافت می‌شود. برای جداسازی و خالص سازی این پپتیدهای ضد میکروبی، از RP-HPLC و برای تعیین توالی پپتید استخراج شده، از روش اسپکتروسکپی جرمی متوالی استفاده شد. در این مطالعه، پپتیدی ضد میکروبی با ۲۱ اسید آمینه و با وزن مولکولی ۲۳۴۷/۸۰ دالتون گزارش شد. این پپتید به دلیل اینکه برای اولین بار و از قورباغه بلوچی استخراج شد، سیانوفلیکتین نامگذاری شد. بررسی همولوژی پپتید سیانوفلیکتین با سایر پپتیدهای مشابه، نشان داد که این پپتید دارای ٪ ۴۷ تشابه با پپتید ضد میکروبی 2EC- بروینین است. آزمایش‌های ضد میکروبی پپتید سیانوفلیکتین که با روش نشر شعاعی صورت گرفت، مشخص نمود که این پپتید ضد میکروبی، طیف عظیمی از میکروب‌های گرم مثبت و گرم منفی را از بین می برد. نتایج ما همچنین نشان داد که این پپتید دارای حداقل غلظت مهاری کمتر از ۵ میکرو گرم بر میلی لیتر بوده و هیچ گونه اثر همولیز کنندگی در محدوده MIC ندارد. سیانوفلیکتین در غلظت ۶۰ میکرو گرم بر میلی لیتر دارای ٪۲/۳۵ اثر همولیز کنندگی است. در نتیجه ترشحات پوستی قورباغه بلوچی دارای کلاس جدیدی از پپتیدهای ضد میکروبی با فعالیت بالای ضد میکروبی می باشد.

کلمات کلیدی: یوفلیکتیس سیانوفلیکتیس (قورباغه بلوچی)، پپتید های ضد میکروبی، سیانوفلیکتین، MIC.

فهرست:

چکیده فارسی

علایم اختصاری

مقدمه

۱-۱ تاریخچه پیدایش پپتید های ضد میکروبی ۲

۱-۲ پپتیدهای ضد میکروبی ۲

۱-۲-۱ ساختار پپتیدهای ضد میکروبی ۵

۱-۲-۲ سازوکار فعالیت پپتیدهای ضد میکروبی ۸

۱-۲-۲-۱ سازوکار های غشایی ۸

۱-۲-۲-۲ سازوکار های درون سلولی ۱۱

۱-۲-۳ خصوصیات ویژه پپتیدهای ضد میکروبی ۱۲

۱-۲-۴ اهمیت پپتیدها ۱۴

۱-۲-۵ ساخت داروهای جدید ۱۵

۱-۳ تنوع پپتیدهای ضد میکروبی در شاخه‌های مختلف حیات ۱۶

۱-۳-۱ پپتیدهای ضد میکروبی در گیاهان ۱۷

۱-۳-۲ پپتیدهای ضد میکروبی در حشرات، بندپایان و بی مهره گان ۲۰

۱-۳-۳ پپتیدهای ضد میکروبی در پستانداران ۲۱

۱-۳-۴ پپتیدهای ضد میکروبی در دوزیستان ۲۳
۱-۴ مشخصات کلی قورباغه‌ها ۲۳
۱-۴-۱ مشخصات ظاهری قورباغه‌ها ۲۳
۱-۴-۲ محیط زیست قورباغه‌ها ۲۴
۱-۴-۳ سیستم دفاعی ۲۴
۱-۴-۴ تغذیه و عادت‌های غذایی ۲۴
۱-۴-۵ قورباغه بلوچی ۲۵
۱-۴-۶ اهمیت پوست قورباغه در پزشکی و داروسازی ..... ۲۶.
۱-۴-۷ پوست قورباغه امیدی برای جلوگیری از HIV ۲۷
۱-۴-۸ اثر پپتیدهای ضدمیکروبی بر چندین عامل بیماری زای دیگر ۲۸
۱-۵ پپتید های ضد میکروبی در پایگاه های اطلاعات ۲۸
۱-۶ هدف ۳۰

مواد و روش‌ها

۲-۱ محلول‌ها و مواد ۳۳
۲-۲ جمع آوری نمونه ۳۴
۲-۳ استخراج نمونه ۳۵
۲-۴ الکتروفورز اسید اوره ۳۵

۲-۵ الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید –سدیم دودسیل سولفات تریسین ۳۷
۲-۶ الترافیلتراسیون ۴۰
۲-۶-۱ عوامل مؤثر در الترافیلتراسیون ۴۰
۲-۶-۲ روش کار با الترافیلتراسیون ۴۱
۲-۷ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ۴۲
۲-۷-۱ کاربردهای HPLC ۴۳
۲-۷-۲ کار با دستگاه HPLC ۴۴
۲-۸ اسپکتروسکپی جرمی و تعیین توالی پپتید ۴۵
۲-۹ بررسی همولوژی و روابط فیلوژنی ۴۵
۲-۱۰ سنجش نشر شعاعی (RDA) ۴۵
۲-۱۱- اندازه گیری فعالیت ضد میکروبی از طریق اندازه گیری شعاع هاله ۴۶
۲-۱۲ تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) پپتیدهای کاتیونیک ۴۶
۲-۱۳ تست همولیز ۴۸
۲-۱۳-۱ روش سنجش همولیز به روش بلاد آگار ۴۸
۲-۱۳-۲ روش سنجش همولیز به روش جذب ۴۹
۲-۱۴ تست حساسیت دارویی (DS) ۴۹

نتایج و بحث

۳-۱ جمع آوری نمونه ۵۱

۳-۲ استخراج نمونه ۵۱

۳-۳ الکتروفورز اسید اوره ۵۱

۳-۴ الکتروفورز Tricine- SDS-PAGE ۵۲

۳-۵ الترافیلتراسیون ۵۳

۳-۶ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ۵۴

۳-۷ اسپکتروسکپی جرمی و تعیین توالی پپتید ۵۶

۳-۸ همولوژی پپتید استخراج شده ۵۷

۳-۸-۱ درخت فیلوژنتیکی پپتید استخراج شده ۵۹

۳-۸-۲ همولوژی پپتید استخراج شده بر اساس مدل ماتریسی ۵۹

۳-۹ نتایج تست‌های میکروبی ۶۱

۳-۱۰ شاخص‌های فعالیت ضد میکروبی ۶۲

۳-۱۱ سنجش همولیز ۶۳

۳-۱۲ حساسیت دارویی ۶۵

۳-۱۳ ویژگی‌های ساختاری پپتید سیانوفلیکتین ۶۶

بحث و نتیجه گیری ۶۹

منابع ۷۲

چکیده انگلیسی.....

فهرست جداول

جدول ۱-۱- توالی ساختار اول برخی از پپتیدهای ضد میکروبی ۴

جدول ۱-۲- درصد و تعداد پپتیدهای موجود در پایگاه داده‌ها ۶

جدول ۱-۳- اثرات بالینی پپتیدهای ضد میکروبی. ۷

جدول ۱-۴- نمونه پپتیدهای دیگر استخراج شده از گیاهان ۱۷

جدول ۱-۵- سایر دفنسین‌ها در گیاهان مختلف ۱۸

جدول ۲-۱- لیست مواد مورد نیاز ۳۳

جدول ۲-۲- دستور تهیه ژل الکتروفورز اسید اوره ۳۶

جدول ۲-۳- نحوه تهیه ژل جدا کننده ۳۸

جدول ۲-۴- نحوه تهیه ژل متراکم کننده ۳۸

جدول ۲-۵- نحوه تهیه ژل جدا کننده در الکتروفورز بر اساس روش ریچارد – سیمسون ۳۹

جدول ۲-۶- نحوه تهیه ژل متراکم کننده در الکتروفورز بر اساس روش ریچارد – سیمسون ۳۹

جدول ۲-۷- برنامه مورد استفاده در HPLC ۴۴

جدول ۳-۱- درصد تشابه، نام و منشاء پپتید های مشابه با پپتید سیانوفلیکتین در بانک اطلاعات پپتیدها ۵۸

جدول ۳-۲- فعالیت ضد میکروبی و MIC پپتید سیانوفلیکتین ۶۲

جدول ۳-۳- مقایسه اثرات ضد میکروبی، MIC و فعالیت همولیتیک سیانوفلیکتین با سایر پپتیدهای ضد میکروبی .۶۵

جدول ۳-۴- اطلاعات ساختاری پپتید سیانوفلیکتین در مقایسه با پپتیدهای مشابه ۶۷

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱- انواع ساختارهای پپتیدهای ضد میکروبی. ۶

شکل ۱-۲- نحوه اتصال پپتید با غشاء در مدل منفذ استوانه‌ای. ۹

شکل ۱-۳- مدل منافذ مارپیچی ۹

شکل ۱-۴- مدل مفروش کننده ۱۰

شکل ۱-۵- حالت‌های مختلف پیشنهاد شده برای نحوه اتصال پپتید با غشاء ۱۱

شکل ۱-۶- اثرات پپتید ضد میکروبی بر روی متابولیسم و سنتز ترکیبات در درون سلول. ۱۳

شکل ۱-۷- توالی پپتیدهای ضد میکروبی دفینسین در جانداران مختلف ۱۹

شکل ۱-۸- میزان و نوع اثرات بالینی پپتیدهای ضد میکروبی استخراج شده از گیاهان. ۲۰

شکل ۱-۹- نحوه ایجاد کاتلیسیدین ها. ۲۲

شکل ۱-۱۰- پراکنش گونه قورباغه بلوچی. ۲۵

شکل ۲-۱- شکل ظاهری قورباغه بلوچی. ۳۴

۲-۲- شمایی از دو پدیده دیالیز و الترافیلتراسیون. ۴۱

شکل ۲-۳- نمای کلی از دستگاه HPLC. ۴۲

شکل ۲-۴- نحوه تهیه غلظت‌های سریالی از پپتید ضد میکروبی ۴۷

شکل۳-۱- الکتروفورز اسید- اوره. ۵۲

شکل۳-۲- الکتروفورز بر روی ژل آکریل آمید. ۵۳

شکل۳-۳- پیک‌های HPLC نمونه تغلیظ شده از قورباغه بلوچی. ۵۴

شکل۳-۴- جداسازی و خالص سازی پیک‌های ناخالص و نزدیک به هم، روی ستون‌های C۱۸ .....۵۵

شکل ۳-۵- طیف جرمی متوالی پیک شماره ۹ ستون ۸ C. ۵۶

شکل ۳-۶- هم ردیفی پپتید استخراج شده با پنج پپتید مشابه دیگر. ۵۹

شکل ۳-۷- درخت فیلوژنی و مدل ماتریسی تشابه پپتید سیانوفلیکتین. ۶۰

شکل ۳-۸- اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی پپتید سیانوفلیکتین. ۶۱

شکل ۳-۹- منحنی های رشد باکتری های مختلف در حضور غلظت های مختلف پپتید سیانوفلیکتین ۶۳

شکل۳-۱۰- فعالیت همولیز کنندگی پپتید سیانوفلیکتین در غلظت های مختلف بر علیه گلبول های قرمز انسان. ..۶۴

شکل۳-۱۱- میزان فعالیت همولیز کنندگی پپتید در محیط آگار خونی. ۶۴

شکل ۳-۱۲- اندازه گیری حساسیت دارویی. ۶۶

شکل ۳-۱۳- نمودار pH ایزوالکتریک پپتید سیانوفلیکتین. ۶۷

شکل ۳-۱۴- مدل مارپیچ ادمنسون. ۶۸

اختصارات

rpm : Rotate per minute

TEMED: N,N,N',N'- Tetramethyl ethylene diamine

Tricin SDS-PAGE: Tricin-sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electerophotesis

RDA: Radial diffusion assay

TSB: Tripticase soya broth

OD: Optical density

CFU: Colony forming unit

MIC: Minimum inhibitory constant

NCCLS: National committee for clinical laboratory standards

DS: Drug susceptibility

فصل اول

مقدمه

۱-۱ تاریخچه پیدایش پپتید های ضد میکروبی

دنیای پپتیدهای ضد میکروبی اولین بار به طور کاملا اتفاقی توسط یک داروساز ایتالیایی به نام ویتوریو ارسپامر[۱] کشف شد. به این ترتیب که وقتی گونه‌ای وزغ توسط سگ تحریک می‌شد، باعث ترشح موادی از پوست دوزیست می‌گردید، این امر علاقه این محقق را به بررسی‌های بیشتر در پی داشت و منجر به شناسایی ترکیبی حاوی پروتئین و آلکالوئید شد. مطالعات بیشتر سبب شناسایی ترکیباتی ضد میکروبی از پوست دوزیستان گردید. وجود تکنیک‌های مختلف جداسازی مانند روشهای مختلف کروماتوگرافی و الکتروفورز، در پیشرفت این حوزه نقش انکار ناپذیری داشتند. با گسترش و پیشرفت علم پپتیدومیکس و پروتئومیکس، و با حضور دستگاه‌ها و روش‌های طراحی و سنتز پروتئین در آزمایشگاه‌ها، زمینه برای مطالعات بیشتر فرآهم شد تا جاییکه امروزه به علم نوپای پپتیدومیکس، به عنوان علمی مستقل از بیوشیمی نگریسته می‌شود [۱].

۱-۲ پپتیدهای ضد میکروبی

برخی از حشرات، بندپایان و نیز پستانداران توانایی ترشح پپتیدهایی را دارند که خاصیت ضد میکروبی دارد [۲,۳]. پوست دوزیستان نیز به دلیل شرایط و محیط زندگی، این توانایی را در ترشح پپتیدی که دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد ویروسی و گاهی ضد توموری است، دارند [۴,۵,۶]. ظهور بیماری‌های جدید میکروبی و قارچی در نقاط مختلف جهان که عمدتا مقاوم به داروها و آنتی بیوتیک بوده و موجب بروز خطر در جوامع امروزی هستند، لزوم تحقیق و به کارگیری داروهای جدید را مطرح می کند [۷].

امروزه دانشمندان در جوامع پیشرفته به دنبال روش‌هایی برای به کارگیری پپتیدهای ضد میکروبی به عنوان داروهای جایگزین در درمان بیماری‌های مختلفی هستند که نسبت به آنتی بیوتیک‌ها ایجاد مقاومت کرده‌اند. ترشحات پوستی دوزیستان حاوی یک سری پپتید ضد میکروبی بوده که ممکن است در طراحی داروهای جدید کاربرد داشته باشند [۸]. از پوست قورباغه در طب سنتی برای درمان عفونتهای پوستی ناشی از سوختگی و زخم‌های سطحی استفاده می شود.

[۱] .Vittorio Erspamer

هزاران پپتید با خاصیت آنتی بیوتیک در نیم قرن گذشته کشف و شناسایی شده‌اند. تمامی این ترکیبات به دو گروه تقسیم بندی می‌شوند:

۱) پپتیدهای سنتز شده غیر ریبوزومی (NRP)[۱] : پپتیدهای غیر ریبوزومی (مانند: گرامیسیدین[۲] و وانکومایسین[۳]) به وسیله باکتری‌ها تولید می‌شوند. در حالی که پپتیدهای طبیعی به وسیله تمام شاخه‌های حیات حتی باکتری‌ها ایجاد می گردند که بخش عمده‌ای از سیستم ایمنی آن‌ها را تشکیل می‌دهند. پپتیدهای سنتز شده غیر ریبوزومی در باکتری‌ها، قارچ‌ها و استرپتومیست‌ها دیده می‌شوند و دارای دو یا چند بخش مشتق شده از اسیدهای آمینه هستند [۹,۱۰,۱۱]. این پپتیدها به وسیله مجموعه‌های آنزیمی چند بخشی یا چند آنزیمی تولید می‌شوند.

۲) پپتیدهای ریبوزومی یا طبیعی: این گروه از پپتیدها در تمامی موجودات از باکتری تا سایر موجودات عالی یافت می‌شود و به وسیله ریبوزوم‌های موجود در ساختمان خود ارگانیسم تولید و سنتز شده و یا در اثر هضم پروتئولیتیک و آنزیمی، از قطعات بزرگ تر پروتئینی ایجاد می‌گردند. این دسته از پپتیدهای ضد میکروبی که بوسیله هضم آنزیمی بدست می‌آیند، تولید قطعات کوچک تر پپتیدی به نام پپتید فعال زیستی[۴] می‌کنند که اغلب از اسیدهای آمینه کاتیونیک مانند آرژینین و لیزین تشکیل شده‌اند. امروزه شاخه‌ای از علم پروتئومیکس، به مطالعه و بررسی پپتیدهای فعال زیستی می پردازد. در این شاخه پروتئین‌های بزرگی که دارای اسیدهای آمینه با بار مثبت در ساختار خود هستند به وسیله‌ی هضم آنزیمی به قطعات کوچکتر شکسته می‌شوند. این قطعات پس از خالص سازی و تعیین توالی باید در آزمایش‌های مختلف میکروبی تایید و اثبات شوند. توالی ساختار اولیه برخی از پپتیدهای ضد میکروبی از هر دو گروه ریبوزومی و غیر ریبوزومی، در جدول (۱-۱) نشان داده شده است.

---

[۱] .Nonribosomal peptide
[۲] .Gramicidin
[۳] .Vancomycin
[۴] .Bioactive Peptide

جدول ۱-۱- توالی ساختار اول برخی از پپتیدهای ضد میکروبی. پرانتز، اسیدهای آمینه حلقوی را نشان می‌دهد. d نشان دهنده اسیدهای آمینه نوع D است. شماره‌های اندیس پایین نشان دهنده پل های دی سولفیدی یا تیواتری بین سیستئین هاست.O، اورنتین؛B ،آمینوبوتریک اسید؛X ،۲و۳ دی هیدروبوترین؛U ،۲و۳ دهیدروآلانین و Z ،آمینوبوتیرات است.

ساختار	پپتید
Cyclic (LOVPFdLOVPFd)	گرامیسیدین S
Cyclized I(C)LEdI(KOdIFHD)Dd-NH_2	باسیتراسین[۱]
Cyclized isooctanoyl BTBB(BFdLBBT)	پلی میکسین B[۲]
$VVC_1AC_2RRALC_3LPRERRAGFC_3RIRGRIHLC_2C_1RR$	دفنسین –آلفای خرگوش[۳]
$DHYNC_1VSSGQC_2LYSAC_3PIFTKIQGTC_2YRGKAKC_1C_3K$	دفنسین – بتای انسان
$RRWC_1FRVC_2YRGFC_2YRKC_1R$	تاکی پلسین[۴]
$RLC_1RIVVIRVC_1R$	باکتنسین احشام[۵]
KWKFKKIEKMGRNIRDGIVKAGPAIEVIGSAKAI	سکروپین پروانه ابریشم[۶]
ILPWKWPWWPWRR	ایندولیسیدین احشام[۷]
$IXA_1IULA_1Z_2PGA_2KZ_3GLAMGA_3NMKZ_4AZ_5A_4HA_5SIHVUK$	نیسین باکتری[۸]

۱. Bacitracin
۲. Polymyxin-B
۳. Rabbit α-defensin
۴. Tachyplesin
۵. Cattle bactenecin
۶. Silk moth cecropin-A
۷. Indolicidin
۸. Bacterial nisin

۱-۲-۱ ساختار پپتیدهای ضد میکروبی

پپتیدهای ضد میکروبی توزیع بسیار گسترده و نقش مهمی در سیستم‌های دفاعی پستانداران، حشرات، گیاهان، باکتری‌ها و ویروس‌ها دارند. با مقایسه ساختار پپتیدهای شناسایی شده می‌توان آن ها را در چند گروه تقسیم بندی نمود [۱۲,۱۳]. در این تقسیم بندی فقط ساختار پپتیدها لحاظ شده و به ویژگی‌های دیگر آن ها پرداخته نشده است. بر اساس این طبقه بندی، پپتیدهای ضد میکروبی در چهار کلاس ساختاری قرار می‌گیرند.

الف) ساختارهای α-هلیکس: این پپتیدها مانند ماگاینین[۱] ساختار صرفا مارپیچی دارند.

ب) ساختارهای باز یا مدل‌های مارپیچی تصادفی[۲]: پپتیدهای متعلق به این گروه، هیچ گونه ساختار مشخصی ندارند. و به همین دلیل به آن ها، ساختارهای باز یا مدل‌های مارپیچی تصادفی می‌گویند.

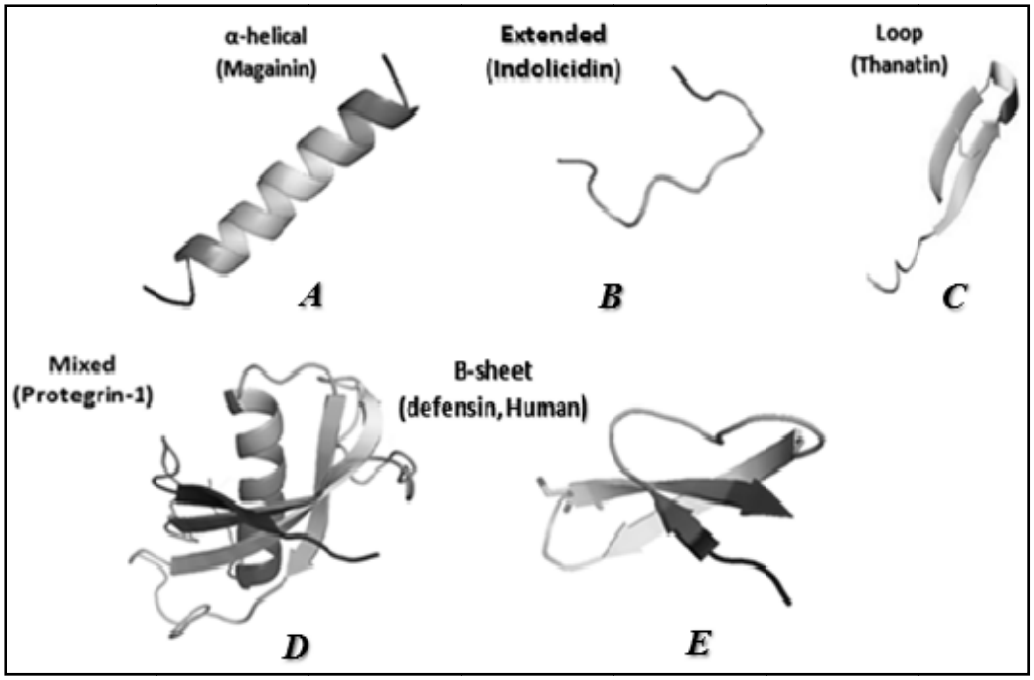
ج) ساختارهای لوپ: پپتیدهایی که جزء این گروه ساختاری می‌باشند، برای استحکام ساختمان خود، اغلب دارای پیوندهای دی سولفیدی هستند. تاناتین[۳] یکی از این پپتیدهای ضد میکروبی متعلق به این گروه است که در شکل (c) ۱-۱ نمایش داده شده است.

د) ساختارهای صفحه‌ای β: این گونه پپتیدها از یک یا چند صفحه چین‌دار بتا تشکیل شده‌اند. موتیف هسته γ، ساختاری با دو صفحه β به صورت موازی معکوس با حضور یک مارپیچ α است که اغلب فعالیت بیشتری در بین انواع ساختارهای پپتیدهای ضد میکروبی دارد [۱۴].

علاوه بر ساختارهای عنوان شده، پپتیدهای ضد میکروبی همچنین می توانند ساختارهای پیچیده و مرکب را اتخاذ کنند. پپتیدهای متعلق به این گروه، ساختار مشخصی ندارند و شامل مجموعه‌ای از این ساختارها می‌باشند. پروتگرین[۴] نمونه مشخصی از این گروه ساختاری از پپتیدهای ضد میکروبی است. در این مبحث، این دسته از پپتیدهای ضد میکروبی به عنوان گروه جدایی در نظر گرفته نشده اند.

---

۱. Magainin
۲. Random coil
۳. Thanatin
۴. Protegrin



شکل ۱-۱- انواع ساختارهای پپتیدهای ضد میکروبی. (A) مارپیچ α (مانند: ماگاینین- ۲ "PDB code 2MAG")، (B) ساختار باز (مانند: ایندولسیدین "PDB code 1G89")، (C) ساختار لوپ (مانند: تاناتین "PDB code 8TFV") . پل‌های دی سولفید، در شکل مشخص هستند ، (D) ساختار مرکب (پروتگرین- ۱ و دفنسین-۲ بتا انسان "PDB code 1FQQ")، (E) صفحه β (مانند: تاکی پلسین-۱ " PDB code 1WO0 " و α- Defensin انسانی) [۱۳].

تاکنون از حدود ۱۶۴۴ پپتید ضد میکروبی یافت شده، اغلب آن ها دارای ساختار نامشخص هستند. در جدول (۱-۲) نسبت پپتیدها در هریک از کلاس‌های ساختاری مشخص شده است. در جدول (۱-۲) پپتیدهای طبقه بندی شده در کلاس‌های ساختاری، نسبت به کل پپتیدها در نظر گرفته شده و هر مورد جداگانه شمارش شده است. در این طبقه بندی، پپتیدهایی که دارای پیوند دی سولفیدی هستند، در یک گروه جداگانه در نظر گرفته شده است.

جدول ۱-۲- درصد و تعداد پپتیدهای موجود در پایگاه داده‌ها.

	مارپیچ α	صفحه‌ی β	ساختار مرکب	دارای پیوند دی سولفیدی	دارای اسیدآمینه‌ی غیرمعمول	ساختار نامشخص
تعداد پپتیدها	۲۹۵	۸۲	۵۳	۳۷۶	۱۱۶	۷۵۴
درصد پپتیدها	۱۵/۷۵	۴/۹۸	۳/۲۲	۲۲/۸۷	۷/۰۵	۴۵/۸۶

اندازه پپتیدهای ضد میکروبی متفاوت بوده و از ۶ تا بیش از ۸۰ اسیدآمینه در پایگاه‌های اطلاعاتی به ثبت رسیده است. این اطلاعات در پایگاه داده‌ها برای پپتیدهای ضد میکروبی (http://aps.unmc.edu/AP/main.php)، در دسترس است. حتی پپتیدهایی با دو یا سه واحد اسید آمینه که دارای خاصیت ضد میکروبی باشد نیز گزارش شده است [۱۴]. طول متوسط این تعداد پپتیدهای ضد میکروبی ثبت شده در پایگاه داده‌ها، ۳۰/۶۳ اسیدآمینه و متوسط بار خالص آن ها ۳/۸۱ است که نشان دهنده حضور بیشتر اسیدهای آمینه با بار مثبت است. در این بین، اسیدآمینه گلیسین با ٪ ۱۱/۷۲ بیشترین و متیونین با ٪ ۱/۱۱ کمترین مقدار را در توالی پپتیدهای ضد میکروبی دارند.

همان گونه که قبلا اشاره شد، پپتیدهای ضد میکروبی دارای اثرات متفاوتی بر ارگانیسم‌ها هستند. در جدول (۱-۳)، درصد و تعداد پپتیدها در بروز اثرات بالینی آورده شده که در این میان، اغلب پپتیدها دارای اثرات ضد میکروبی هستند به همین دلیل در اصطلاح عام به همه این پپتیدها، پپتیدهای ضد میکروبی اطلاق می‌شود.

جدول ۱-۳- اثرات بالینی پپتیدهای ضد میکروبی.

	ضد میکروب	ضد قارچ	ضد ویروس	ضد سرطان
تعداد پپتیدها	۱۲۸۷	۴۸۷	۱۰۲	۱۰۰
درصد پپتیدها	۷۸/۲۸	۲۹/۶۲	۶/۲	۶/۰۸

همه این ساختارهای پپتیدی تمایل به ایجاد ساختار آمفی پاتیک دارند و هیچ توالی یا موتیف خاصی در بین آن ها دیده نمی‌شود. پپتیدهای ضد میکروبی به دلیل داشتن اسیدهای آمینه لیزین و آرژینین دارای ۲ تا ۹ بار مثبت هستند و حداقل ۵۰٪ اسیدهای آمینه آن ها را اسیدهای آمینه هیدروفوب تشکیل می‌دهد. اسیدهای آمینه اسیدی یا خنثی بخش کوچکی از توالی این گونه از پپتیدها را تشکیل می‌دهند، البته پپتیدهایی با فعالیت ضد قارچی دارای اسیدهای آمینه قطبی خنثی بیشتری هستند.