

# جداسازی و کلونینگ ژن اکسیدوردوکتاز از یک سویه باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس

جمشید راهب<sup>۱\*</sup> (Ph.D)، الهام آقائی مقدم<sup>۱،۲</sup> (M.Sc)، شمیم نقدی<sup>۱</sup> (M.Sc)، مه‌لقا قربانلی<sup>۳</sup> (Ph.D)، غلامرضا بخشی‌خانیکی<sup>۲</sup> (Ph.D)

۱- پژوهش‌گاه ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی

۲- دانشگاه پیام‌نور تهران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی گرگان

## چکیده

سابقه و هدف: یکی از محدودیت‌های فرآیند پالایش و مصرف مواد نفتی مشکلات ناشی از وجود ترکیبات گوگردی در آن‌ها است. استفاده از سوخت‌های فسیلی منجر به آزادسازی SO<sub>2</sub> و به دنبال آن آلودگی محیط‌زیست می‌شود. برای حل این مشکلات، حذف میکروبی گوگرد پیشنهاد شده است. از آن‌جا که کارایی باکتری‌های سولفورزدا محدود است، توجه محققین به افزایش کارایی آن‌ها از طریق دست‌کاری‌های ژنتیکی معطوف شده است. انجام چنین دست‌کاری‌هایی معطوف به بررسی ژنتیک فرآیند حذف گوگرد باکتری‌های بومی و سپس کلون کردن ژن‌های مؤثر در این فرآیند است. در این رابطه، چند سویه باکتری در ایران جداسازی شدند و مورد بررسی قرار گرفتند. سه ژن B، C و dsz A، دارای توالی DNA، ۴ کیلوبازی هستند که حامل ژن‌های سولفورزدا برای مسیر 4S می‌باشند، که این توالی، در باکتری تازه جدا شده رودوکوکوس FMF شناسایی و جداسازی شد و سپس در باکتری سودوموناس آئروجینوزا کلون گردید. ژن dszD تولید کننده آنزیم اکسیدوردوکتاز در جهت مسیر سولفورزدایی 4S می‌باشد. در این طرح اقدام به شناسایی، جداسازی و کلونینگ dszD از یک سویه باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس نموده و سپس کلون مذکور را تأیید نمودیم.

مواد و روش‌ها: یک سویه باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس را که دارای فعالیت سولفورزدایی است در داخل شیکر انکوباتور RPM ۲۰۰ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد داده شد و DNA ژنومی آن استخراج گردید و سپس در شرایط بهینه، PCR انجام گرفت. ژن اکسیدوردوکتاز (dszD) از روی ژل آگارز استخراج و در پلاسمید PTZ57R کلون و داخل میزبان *E-coli (DH5 α)* ترانسفورم شد. نقشه ژنی این پلاسمید نو ترکیب با آنزیم‌های محدودکننده به دست آمد و سپس تعیین توالی و همولوژی‌های لازم انجام گرفت.

یافته‌ها: با توجه به این که باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس *IGTS8* استاندارد، دارای سویه‌های مختلف می‌باشد و همین‌طور از تشابه توالی نوکلئوتیدی بین ژن اکسیدوردوکتاز باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس *IGTS8* استاندارد و ژن اکسیدوردوکتاز رودوکوکوس اریتروپولیس مورد آزمایش، این‌طور به نظر می‌رسد که سویه در دست بررسی می‌تواند شباهت‌ها و یا قرابت‌هایی با باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس *IGTS8* استاندارد داشته باشد. نتیجه‌گیری: نتیجه سکانس ژن اکسیدوردوکتاز این سویه از باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس که تحت نام FRF.Seq است، نشان می‌دهد که تعداد نوکلئوتیدهای مربوط به ژن اکسیدوردوکتاز باکتری مورد آزمایش مساوی با تعداد نوکلئوتیدهای مربوط به باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس *IGTS8* استاندارد یعنی ۵۷۹bp است.

واژه‌های کلیدی: ژن اکسیدوردوکتاز (dszD)، باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس، سولفورزدایی، پلاسمید PTZ57R