مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان- جلد ۵، شماره ۳ و٤، بهار و تابستان ۱۳۸۳

شناسایی و کلونینگ اپرون سولفورزدایی SOX (dszA, B) در باکتری بومی رودوکوکوس FMF

سودابه اکبرزاده‌شعرباف (M.Sc)، جمشید راهب* (Ph.D)

پژوهش‌گاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

چکیده

سابقه و هدف: باکتری بومی رودوکوکوس FMF از میان چندین سویه که از خاک مناطق مختلف ایران جدا شده بود، انتخاب گردید. مطالعات اولیه نشان داد که این باکتری دارای توانایی مصرف دی‌بنزوتیوفن به عنوان منبع گوگرد می‌باشد. از آن‌جا که فعالیت حذف گوگرد طی یک مسیر حفظ شده صورت می‌پذیرد، طرح حاضر با هدف شناسایی، کلونینگ و تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن‌های گوگردزدا در این باکتری طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق ابتدا اپرون گوگردزدایی از داخل باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 جداسازی شد و به‌عنوان پروب در شناسایی ژن‌های مسیر سولفورزدایی 4S با استفاده از تکنیک سادرن بلاتینگ به‌کار رفت. بعد از تأیید حضور اپرون گوگردزدایی در باکتری بومی رودوکوکوس FMF، پرایمرهای مناسب طراحی شد؛ سپس ژن‌های dszA,B با استفاده از تکنیک PCR تکثیر گردید و بعد از خالص‌سازی برای کلونینگ به‌داخل وکتور pTZ57R مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: کانستراکت حاصل از کلونینگ ژن‌های dszA,B به داخل وکتور pTZ57R به‌نام pTZAB57R خوانده شد و با استفاده از برش‌های آنزیمی تأیید گردید، سپس توالی ژن‌های dszA,B بعد از خالص‌سازی پلاسمید به روش Large scale به‌طریقه اتوماتیک و توسط شرکت MWG DNA Biotech آلمان تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: مقایسه سکانس به‌دست آمده از ژن‌های dszA,B در باکتری بومی رودوکوکوس FMF هم‌سانی کامل آن‌را با سکانس ژن‌های dszA,B در باکتری رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8 نشان می‌دهد که دلالت بر حفظ شدن مسیر گوگردزدایی در این باکتری دارد.

واژه‌های کلیدی: رودوکوکوس، رودوکوکوس اریتروپولیس IGTS8، گوگردزدایی بیولوژیک، دی‌بنزوتیوفن

مقدمه

آزادسازی اکسیدهای گوگرد بعد از احتراق سوخت‌های فسیلی یک مسأله مهم زیست‌محیطی است. این مسأله یکی از علل مهم آلودگی هواست و به‌علاوه باعث ایجاد باران‌های اسیدی می‌شود [۶،۱۰،۹]. از طرف دیگر وجود گوگرد در ترکیبات نفتی باعث ایجاد خوردگی در وسائل تولید، پالایش و انتقال مواد نفتی و هم‌چنین باعث غیرفعال شدن کاتالیست‌ها می‌شود [۲]. روش رایج برای گوگردزدایی از ترکیبات نفتی، هیدرودسولفوریزاسیون (HDS) می‌باشد. هیدرودسولفوریزاسیون تحت فشار بالا (Ib/in^2 3000 -150) و دمای بالا ^oc ۴۵۵-۲۹۰ و استفاده از گاز هیدروژن در حضور کاتالیزور فلزی برای تبدیل گوگرد موجود در ترکیبات نفتی به سولفید هیدروژن (H_2S) صورت می‌پذیرد [۸].

ارزش سرمایه‌گذاری و بهره‌برداری از این پروژه بالاست،

* نویسنده مسئول. تلفن: ۴۵۸۰۳۸۷-۰۲۱، نمابر:۴۵۸۰۳۹۹-۰۲۱، E-mail: jam@nrcgeb.ac.ir