

تولید و خالص سازی آنزیم پروتئاز قلیایی از باسیلوس قلیادوست جدا شده از خاک

حمیدرضا فلاح پیشه^۱، دکتر محمود جلالی^۲، دکتر ناصر بادامی^۳، نادیا مردانی^۴

دریافت مقاله: ۱۳۸۴/۶/۲ اصلاح نهایی: ۱۳۸۴/۹/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۹/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: پروتئازها جزو مهم ترین آنزیم های صنعتی هستند پروتئازهای قلیایی در ترکیب شوینده ها استفاده می شوند. از آن جایی که مقاومت در برابر حرارت و محیط قلیایی دو خصوصیت مهم آنزیم ها به هنگام افزودن به ترکیب پاک کننده ها است لذا جستجو برای یافتن منابع آنزیمی و آنزیم های قلیایی دارای اهمیت بسیاری می باشد. هدف از انجام این مطالعه بررسی جداسازی باسیلوس قلیادوست از خاک و امکان تولید آنزیم پروتئاز قلیایی از سوش جدا شده و خالص سازی آنزیم تولید شده بود.

مواد و روش ها: عملیات جداسازی و تخلیص باسیلوس قلیا دوست از نمونه های خاک با استفاده از کشت در محیط اختصاصی با هدف شناسایی فعالیت پروتئازی اولیه و سپس تخلیص سویه های دارای فعالیت پروتئازی انجام گردید. پس از آن گونه باسیلوس ۲-۵ در محیط مناسب با شرایط معین کشت داده شد. و خالص سازی آن از طریق: ۱- رسوب دهی فاز آنزیمی از طریق اشباع سازی با آمونیوم سولفات ۵۵٪. ۲- تغلیظ توسط اولترافیلتراسیون ۳- کروماتوگرافی تعویض کاتیونی توسط رزین کربوکسی متیل سلولز صورت گرفت. در تمام مراحل فعالیت پروتئاز قلیایی از طریق هیدرولیز سوبسترای کازئین در pH ۱۰ برای مدت زمان مشخص و سپس اندازه گیری محصول پروتئولیز (میزان معادل تیروزین) در طول موج ۲۷۵ نانومتر انجام می گرفت.

یافته ها: با مقایسه خصوصیات بیوشیمیایی و تاکسونومیک، باسیلوس ۲-۵ با باسیلوس آکالوفیلیک تطابق داشت. همچنین این سویه در pH های قلیایی دارای فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک بود ولی فعالیت ژلاتینولیتیک نداشت. پیشرفت خالص سازی با روش الکتروفورز روی ژل پلی آکریل آمید (PAGE) بررسی و جرم ملکولی آنزیم با روش SDS-PAGE و با کمک استانداردهای پروتئینی معادل ۲۴۷۰۰ دالتون معین گردید.

نتیجه گیری: پس از اتمام خالص سازی راندمان کل ۲۴٪ و مرتبه خالص سازی ۵۰ بار تعیین شد که راندمان خالص سازی نهایی به دست آمده مشابه راندمان به دست آمده در سایر تحقیقات بود. به نظر می رسد ملکول این آنزیم یک ملکول منومر باشد چون میزان تحرک الکتروفورتیک تک باندهای به دست آمده در PAGE و SDS-PAGE مشابه یکدیگر بود.

واژه های کلیدی: پروتئاز قلیایی، باسیلوس قلیادوست، خالص سازی، فعالیت ویژه آنزیمی

۱- (نویسنده مسئول) کارشناس ارشد گروه آموزشی بیوشیمی و عضو هیأت علمی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تلفن: ۰۲۱-۲۲۳۷۶۴۲۶، فاکس: ۰۲۱-۲۲۳۶۰۶۶۰، پست الکترونیک: hfalahatpish@yahoo.com

۲- دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- کارشناس گروه آموزشی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران