



پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: ملیحه رضانی، ۱۳۹۵

## جداسازی و خالص‌سازی آنزیم آلفاآمیلاز ترموفیل و امکان‌سنجی سنتز زیستی نانوذرات فلزی توسط آن

آلفاآمیلازها از مهم‌ترین و بااهمیت‌ترین آنزیم‌ها صنعتی به‌شمار می‌آیند و اهمیت فراوانی در بیوتکنولوژی امروزی ایفا می‌کنند. اگرچه منابع مختلفی قادر به تولید آلفاآمیلازهای باشند، عموماً آنزیم‌های مشتق‌شده از منابع میکروبی به‌ویژه منابع باکتریایی و از جنس باسیلوس از جنبه‌های کاربردی و صنعتی دارای ارزش می‌باشند و بیشتر مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند. ابتدا سویه‌های باکتری اکستریموفیل از مناطق صنعتی مختلف جداسازی و غربالگری شدند. در این مطالعه سویه‌ی باکتریایی انتخاب‌شده مقاوم به حرارت بوده و توانایی تولید آنزیم آلفاآمیلاز خارج سلولی و هم‌چنین توانایی سنتز خارج سلولی نانوذره‌ی نقره را دارا بود. مطالعات تعیین‌توالی نشان‌گر شباهت بالای سویه باسیلوس‌ی باسیلوسی بود. با استفاده از کروماتوگرافی تعویض یونی و هیدروفوبی آلفاآمیلاز حاصل خالص و سپس تعیین خصوصیت گردید. فعالیت آنزیمی به‌کمک روش برنفلد تعیین شد. دمای بهینه‌ی فعالیت این آنزیم  $70^{\circ}\text{C}$  است. الکتروفورز با SDS-PAGE باندی را با وزن مولکولی 67 کیلو دالتون نشان داد. الگوی غیرفعال شدن حرارتی برگشت‌ناپذیر در حضور کلسیم و EDTA بررسی گردید. ضمن فعالیت این آنزیم در حضور نمک‌های کلرید کلسیم، سدیم، منیزیم، پتاسیم، کبالت، آمونیوم، سورفاکتانت آنیونی SDS، شلاته‌کننده‌ی EDTA بررسی شد. این آنزیم در حضور نمک‌های کلرید منیزیم، پتاسیم، کبالت، آمونیوم، سورفاکتانت آنیونی SDS تا حدودی دچار کاهش فعالیت شد. شلاته‌کننده‌ی EDTA و کلسیم تاثیر ناچیزی را روی فعالیت آنزیم نشان دادند.

**کلیدواژه‌ها:** آلفاآمیلاز، باکتری ترموفیل، تخلیص، تعیین خصوصیات بیوشیمیایی

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۳۰۵۶۰۹۴۲۰۰۲

تاریخ دفاع: ۱۳۹۵/۰۷/۱۴

رشته‌ی تحصیلی: زیست فناوری (بیوتکنولوژی)

دانشکده: علوم پایه

استاد راهنما: دکتر نسرین ملانیا

استاد مشاور: دکتر علی‌اکبر جنت‌آبادی

### **M.A. Thesis:**

## Isolation and purification of thermophilic -amylase and nanoparticle biosynthesis evaluation

Alpha amylase of the most important enzymes and play an important role in modern



biotechnology. Although a variety of sources able to generate alphaamylase, Generally enzymes derived from microbial sources, particularly sources of bacteria of the genus Bacillus include valuable aspects. Furthermore industrial applications And more are being studied. In this study different strain of bacteria such as Extremophiles were isolated and screened of industrial zones. In this study bacterial strains were resistant to heat and had the ability to produce extracellular amylase and synthesize extracellular silver nanoparticles so that. Sequencing determination studies indicate high similarity to the Bacillus isolate. Using ion and hydrophobic exchange chromatography, the result alpha amylase was purified and then characterized. Enzyme activity was determined by using Bernfeld method and 70°C is the optimum temperature of enzyme activity. SDS-PAGE electrophoresis with molecular weight band 67KDa Showed. The pattern of irreversible thermal inactivation in the presence of calcium and EDTA was investigated. The activity of this enzyme in the presence of calcium chloride, Amonium, sodium, magnesium, potassium, cobalt salts, Anionic surfactant SDS, and chelating EDTA was investigated. The activity of this enzyme in the presence of magnesium chloride, potassium, cobalt, Amonium salts, Anionic surfactant SDS was decreased. Chelating EDTA and calcium Low impact showed that the activity of the enzyme.