



پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: زهره رستمی طبقه، ۱۳۹۵

## جداسازی آنزیم پروتئاز مقاوم به حلال آلی در باکتری‌های مولد نانوذرات فلزی

پروتئازها یکی از آنزیم‌های ضروری در تمام اشکال حیات یعنی پروکاریوت‌ها، گیاهان، قارچ‌ها و حیوانات هستند. امروزه به دلیل نیاز فراوان به این نوع آنزیم تمایل به کشف انواع جدید آن افزایش یافته به طوری که استخراج، خالص‌سازی و مطالعه‌ی ویژگی‌های توعی آنزیم پروتئاز از طریق باکتری باسیلوس SB1 انجام پذیرفته است. در ابتدا شرایط تولید آنزیم بهینه‌سازی شد. در ادامه با استفاده از روش کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون آنزیم خالص‌سازی شد. با استفاده از SDS-PAGE وزن مولکولی پروتئاز 34 کیلودالتون برآورد شد. این آنزیم در pH=8 دارای بهینه‌فعالیت و پایداری می‌باشد. همچنین فعالیت آنزیم در حضور یون‌های  $Li^+$ ،  $Mg^{2+}$ ،  $Ba^{+}$ ،  $Na^+$ ،  $Cu^{2+}$ ،  $Al^{2+}$  مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت آنزیم در حضور یون  $Li^+$  کاهش شدید می‌یابد ولی سبب مهار کامل آنزیم نمی‌شود. یون  $Al^{2+}$  به مقدار زیادی فعالیت آنزیم را کاهش می‌دهد. در حالی که یون‌های  $Mg^{2+}$ ،  $Ba^{+}$ ،  $cu^{2+}$  نیز تا حدودی فعالیت آنزیم را کاهش می‌دهند. در صورتیکه یون  $Na^{2+}$  تقریباً هیچ‌گونه تاثیری بر فعالیت آنزیم ندارد. تحقیقات تاثیر دما بر روی فعالیت و پایداری آنزیمی که خالص شده، نشان می‌دهد که این آنزیم در محدوده‌ی دمایی 40 تا 60 درجه سانتی‌گراد، بهینه‌فعالیت را دارد و پس از گذشت 4 ساعت از زمان انکوباسیون، آنزیم در دمای 60 درجه سانتی‌گراد تقریباً بیش از 50% از فعالیت خود را حفظ می‌نماید. ویژگی منحصر به فرد این آنزیم افزایش فعالیت در حضور حلال‌های آلی متانول و پروپانول است.

**کلیدواژه‌ها:** باسیلوس، خالص‌سازی، آنزیم پروتئاز، حلال آلی

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۳۰۵۶۰۹۴۲۰۱۱

تاریخ دفاع: ۱۳۹۵/۰۷/۱۴

رشته‌ی تحصیلی: زیست فناوری (بیوتکنولوژی)

دانشکده: علوم پایه

استاد راهنما: دکتر نسرین ملانیا

استاد مشاور: دکتر محمد برغم‌دی

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

## Isolation of organic solvents resistant protease in bacteria producing metal nanoparticles

protease

One of the essential enzyme in prokaryotes that all life forms, plants, fungi and animals. Today, because of the great need for this type of enzyme is increased willingness to



explore new types so that the extraction, purification and study of protease enzymes from Bacillus SB1 features Tvlydanzym Ast.drabtda conditions was optimized by using Shd.ba gel filtration chromatography purified enzyme protease, 34 kDa molecular weight using SDS-PAGE Bravrshd.ayn enzymes have optimal stability at pH = 8. also enzyme activity in the presence of ions Li +, Mg<sup>2+</sup>, Ba +, Na +, Cu<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> were studied. + Li-ion enzyme activity in the presence of a sharp decline in the complete inhibition of the enzyme forbidden but lots of activity to reduce the Dhd.drhaly AL<sup>2+</sup> ions ions Mg<sup>2+</sup>, Ba +, cu<sup>2+</sup> Nyztahdvdy activity reduces ion Dhnd.drsvrtykh + Na<sup>2+</sup> Tqrybahych Ndar.thqyqat enzyme activity Tasyrdma effect whatsoever on the activity of purified enzyme stability, suggests that this enzyme in the temperature range 40 to 60 ° C, optimal, and after 4 hours of incubation, enzyme 60 ° C Slightly more than 50% activity increase the activity of enzymes Frdayn retain their unique Nmayd.vyzhgy organic Drhzvrhlal methanol is Vprvpanvl.