



پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد: ندا بهرآبادی، ۱۳۹۵

## غربالگری و شناسایی باکتری مولد آلfa آمیلاز مقاوم به حلال آلی و مطالعه تولید زیستی نانوذرات فلزی

استفاده از آنزیم‌ها در حلال‌های آلی به علت کاهش مقدار آب، محصولات جانبی ناخواسته را کاهش داده و از طرف دیگر تعادل ترمودینامیکی در جهت سنتز فراورده پیش می‌رود و بدینوسیله راندمان عمل آنزیم بالا می‌رود. از طرفی حلال‌های آلی با جدا کردن مولکول‌های آب در اطراف جایگاه فعال باعث کاهش فعالیت آنزیمی می‌شوند. پس دست‌یابی به پروتئاز مقاوم به حلال آلی برای صنعت یک ضرورت است. آلfa-آمیلازها از مهمترین و با اهمیت‌ترین آنزیم‌ها به شمار می‌آیند و اهمیت فراوانی در بیوتکنولوژی امروزی ایفا می‌کنند. اگر چه منابع مختلفی قادر به تولید آلfa-آمیلاز می‌باشند عموماً آنزیم‌های مشتق شده از منابع میکروبی به ویژه منابع باکتریایی و از جنس باسیلوس از جنبه‌های کاربردی و صنعتی دارای ارزش می‌باشند و بیشتر مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته‌اند. در این مطالعه سویه باکتریایی مقاوم به حلال آلی توانایی تولید آلfa آمیلاز خارج سلولی را دارا بوده و مطالعات تعیین توالی نشانگر شباهت بالای سویه ASM-M1 با سویه *Bacillus subtilis* بود. دما و pH بهینه این آنزیم به ترتیب 65 درجه سانتی‌گراد و 7/4 بود. الکتروفورز با SDS-PAGE باندهای را با وزن مولکولی 50 کیلو دالتون نشان داد. آنزیم نشاسته مایع را با  $K_m$  و  $V_{max}$  به ترتیب 0/003 mM و 0/002 U/mg تجزیه می‌نمود. فعالیت این آنزیم در حضور درصدهای مختلف حلال‌های آلی از جمله بوتانل، متانل، پروپانل، هگزان و اتیل استات بررسی شد. بیشترین فعالیت مربوط به حلال متانول می‌باشد.

**کلیدواژه‌ها:** باکتری مقاوم به حلال آلی، آلfa آمیلاز، تعیین توالی، تخلیص

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۳۰۵۶۰۹۴۲۰۰۵

تاریخ دفاع: ۱۳۹۵/۱۱/۰۲

رشته‌ی تحصیلی: زیست فناوری (بیوتکنولوژی)

دانشکده: علوم پایه

استاد راهنما: دکتر نسرین ملانیا

استاد مشاور: دکتر علی‌اکبر جنت‌آبادی

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

: Screening and identification of organic solvents resistant bacteria to amylase enzyme production and metal nanoparticles biosynthesis investigation



The use of enzymes in organic solvents due to the reduced amount of water, reduce unwanted side products and On the other hand, thermodynamic equilibrium proceeds for products synthesis and goes up the enzymatic yield. The organic solvent by the separation of water surrounding the active site caused reduction of enzymatic activity. Achieving the protease resistant to organic solvents is a necessity for the industry.  $\alpha$ -Amylases of the most industrial enzymes and play a important role in modern biotechnology. Although several sources capable of producing  $\alpha$ -amylases. Generally, enzymes derived from microbial sources, especially from bacteria and Bacillus, have various industrial applications and more studied. In this study, The bacterial strains resistant to organic solvents has the ability to produce extracellular amylase. sequencing studies indicate high similarity of ASM-M1 strain to Bacillus subtilis strain. The optimum temperature and pH of the enzyme to 65 ° C and 4/7, respectively. SDS-PAGE electrophoresis revealed a bond with molecular weight of 50 kDa. The Km and Vmax of enzymes was 0.003 mM and 0.002 U / mg, respectively. The activity of this enzyme in the presence of organic solvents such as butanol different percentages, methanol, propanol, n-hexane, ethyl acetate was investigated. The most activities represented in the presence of methanol.