چکیده
زمینه و هدف: پروتئاز جزو مهم‌ترین آنزیم‌های صنعتی است. بررسی پیامدهای فعالیت پروتئازی یکی از صنایع مهم آنزیم‌ها به هنگام افزودن به ترکیب پاک کننده است. نظرات و ملاحظات این نمایشگاه توانسته با استفاده از کشت در محیط اختصاصی ثابت کننده فعالیت پروتئازی باشد. در این گونه با پروتئازات انجام گرفت. این کشت در محیط مناسب با شرایط معین کشت داده شد. در حالی که آنزیم‌های دارای اهمیت بسیاری می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه بررسی جداسازی باسیلوس قلب‌دوست و اکنون تولید آنزیم پروتئاز قلب‌دوست از سوی جدا شده و خالص سازی آنیمیم تولید شده بود.

مواد و روش‌ها: عملیات جداسازی و تخلیه باسیلوس قلب‌دوست از نمونه‌های خاک با استفاده از کشت در محیط اختصاصی با هدف شناسایی فعالیت پروتئازی اولیه و سپس تخلیه سویه‌های دارای فعالیت پروتئازی انجام گرفت. پس از آن گونه باسیلوس 20 در محیط مناسب با شرایط معین کشت داده شد. همچنین با آنیمیمی مولکولی با فاکتور انتقال توانسته در روزین کربوپولیسول صورت گرفت. در تمام مراحل فعالیت پروتئاز قلب‌دوست از طریق هیدروژن سویه‌راتی کاسین در pH 1 کربوپولیسول صورت گرفت. در مطالعه یکی از مشخصات و سپس اندازه‌گیری مولکول پروتئاز(میزان معادل تریوزین) در طول موج 275 نانومتر انجام گرفت.

یافته‌ها: با مقایسه خصوصیت‌های پروتئازی با پروتئازات الکالوتفلکس طبیعی داشت همچنین این سیم‌ها با H دارای فعالیت پروتئازی یکی از فعالیت و لز پاساژ آمیوزن در با پروتئاز (PAGE) و با کمک SDS-PAGE با روش الکتروفورز روی زیر پیال آمیز (PAGE) استانداردهای پروتئزی معادل 2470 دالنون معین گردید.

نتیجه گیری: پس از انجام بالاستیک رساندن کل 24/4 مربی خالص سازی 50 محیط صربی به دست آمد مشابه رساندن به دست آمد در سارب تحقیقات بود به نظر می‌رسید مولکول اندمیم بک مولکول منشأ باشد چون میزان تحرک الکتروفورزیک نک بالاستیک به دست آمد در مشابه یکدیگر بود.

واژه‌های کلیدی: پروتئاز قلب‌دوست، باسیلوس قلب‌دوست، خالصسازی، فعالیت ویژه آنزیمی

1- (توپبنده سنت آرد) کارشناس ارشد گروه آموزشی پویشی، و عضو هیئت علمی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
2- دانشیار گروه آموزشی پویشی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
3- دانشیار گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
4- کارشناس گروه آموزشی بهداشت ویژه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

hfalahahtpishe@yahoo.com

دریافت مقاله: 1384/3/20
صلاح نهایی: 1384/9/14
پذیرش مقاله: 1384/6/30
نام: چهارم فلاحت‌پیشانی
نام: محمدرضا جلالی
نام: نادر ماهانی
دوره: دکتری
جلد: 14
شماره جلد: 4
سال: 1384
تاریخ: 01/06/1384
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
نام: هفتم
شماره: 4
سال: 1384
تاریخ: 12/03/1384
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

مطالعه پژوهشی

جلد چهارم، شماره چهارم- ب، زمستان 1384- 142- 319

تولید و خالصسازی آنزیم پروتئاز قلب‌دوست از باسیلوس قلب‌دوست جدا شده از خاک

حمیدرضا فلاحت‌پیشانی، دکتر محمدرضا جلالی، دکتر نادر ماهانی 4

213
مقدمه
بروتزازها از مهم‌ترین انزیم‌های صنعتی هستند که تقریباً 60٪ فروش آن‌ها نسبت به این اختصاص دارد [1] از این میان، بروتازاز قلب‌پای به صورت اختصاصی به فرومول یاک کنده‌ها زربست می‌شود. در مقایسه با بروتازازهایی که منشأ قارچ و یا جانوری انت‌نیه شده‌اند با اکثریتی یا امیت بیشترین هستند [2]. بروتازازهایی که گرفته شده در ترکیب یاک کنده‌ها لزوماً می‌بایست برای فعالیت آنیزیمی بالا در pH محتمول و سبیعی از برای باتفن و تخلیه آنزیم‌های بروتازازهایی که هر دو خاصیت را توان از هم داشته باشند از اهمیت خاصی برخوردار است. از این روش رده‌گویی از بیابیلوس های قلبی دوستی شناسایی و قدرت تولید بروتازاز قلبی در آن‌ها بررسی شده است [3]. بیابیلوس های تولید کننده بروتازاز هن‌توخفوکس هستند سبیعی به خوبی نوع محیط‌های شکل‌گیری گوناگون رشد می‌کنند. تولید آزمیت توسط رده‌گویی شکل‌گیری قلبی به ترکیب محیط کشت وابسته است [4]. اما نوع محیط کشت برای تولید بروتازاز زرد می‌باشد و گزارش‌ها در مورد کارهای مناسب‌سازی محیط کشت را به حال ناجی و محیط‌بوده است [14-15]. از مهم‌ترین الکاکین بروتازازهای که تا حالاً تولید شده‌اند می‌توان به سوپلیسمین از بیابیلوس لیکوفسوسیوس [16] سوپلیسمین کارلسرکز از بیابیلوس لیکوفسوسیوس [17] سوپلیسمین آمیلوکارپینیتکوس از بیابیلوس آمیلوکارپینیتکوس [18] اشاره نمود. سوپلیسمین‌ها در pH 8-10 در دارای المپیترین فعالیت هستند [2]. انت‌نیه بروتازاز قلبی دارای محدوده pH 6-7 هدف از این انجام مطالعه جدا کردن یک گونه بیابیلوس قلبی‌زست از خاک با قدرت تولید آنزیم بروتازاز قلبی و شناسایی در اثر امکان‌ها به‌هم‌چنین از آنجا که بار اساس نظریه در و هوش‌کوشا پیش‌تر می‌شود.
خلاف سازی آنزیم آلکاپون: تمام مراحل
خلاف سازی در ۴°۵ انجام گرفت. به ۱۲۲ میلی‌لیتر از محلول آنزیمی به دست آمده پودر سلول‌های آمینیوم آنزیم قدرت ذخیره شد.
تا درصد اشباع آن به ۵۵٪ رسید. [۲۳] روش حاصل با سانتریفیوز بار بالای خمیره‌نگارده جدایی و دوباره در پرفیل‌بردار دارای قربانیت بود. کاهش حجم ۱۰ میلی‌لیتر و تغییر دیواره‌ی پیدا آن نیز کاهش داده شد [۲۸]. در مرحله آخر ۲ میلی‌لیتر از این محلول به سرنوشت کرومیرگرفته به ابعاد (۲۰۰/۱۰۰ میلی‌متر و ۱/۵۰/۰ میلی‌متر) تحت خلاء (cut off ۱۰۰۰۰) پیش‌گیری از دیافته‌ی محلول و با pH۷/۵ و جهت عملیات جداسازی آنزیم متصل شده به رژیم‌ها افزودن نمک KCl (۴۰۰ مولار) به پرفیل‌بردار در دهنده فراکسیون‌های حاصله در حجم‌های ۲ میلی‌لیتر و تا ۸۰ میلی‌لیتر (۳۰۰ لوله) توسط دستگاه فراکسیون کالمکور جمع گردید. پس از انتقالگیری محلول آلکاپون و غلظت برونتین‌های حاصل آنزیم جدا و با هم مخلوط شدن و سپس دوباره اولترا فیلتره شد و در نهایت ۱ میلی‌لیتر نمونه آنزیمی خالص به دست آمد. برای تشخیص خالص بودن نمونه آنزیمی از روش پلی‌آکریل‌آمید زل‌کتروفوزور در ضرایب دتانور نشده.
جدول ۱: رراحل خالص سازی آنزیم آگالکانین پروتئاز و تأثیر هر مولکول روغن اولیه در روغن دهی با سولفات آمونیوم:

<table>
<thead>
<tr>
<th>محتوای مولکول روغن اولیه</th>
<th>رسوب دهی با سولفات آمونیوم (۷۵٪)</th>
<th>کروماتوگرافی تعیین کاتیونی با Cellulos</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>حجم (ml)</td>
<td>APU (mg)</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۲۳۲۹۹۱۱</td>
<td>۱۲۲</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۱۴۷۸۵۷</td>
<td>۱۰</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>۰۴۲۸۰</td>
<td>۱</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

### بحث
با مقایسه بسیار سلولز سولئیس و سولئیس دیگر ناکاتاکاماتانیک و فیلیولوژیک می توان این بسیار سلولز-۵ را به عنوان بیشتر با بسیار سلولز سولئیس کروماتوگرافی در ۱۹۹۴ انجام گذاره در pH ۵.۵ و درجه حرارت ۵۵ درصد رشد و تولید آنزیم بود. اما به خاطر برخی مشابه ها، این نتیجه تست V1 و تست احیا نیترات و تست استفاده از سیستم های مثبت بودند با سلولز-۵ را به عنوان برتر رده بسیار سولئیس KSM-K16 در نظر گرفتند. [۲۹] در بررسی دیگری که در ۱۹۹۳ این بسیار سلولز-۵ را به عنوان بسیار سلولز B18 قادر به رشد در pH خشک نیود به عنوان سلولز بسیار سلولز در pH ۵-۵-۵ و رشد در pH خشک برخی از غونه‌های پروتئاز آگالکانین استفاده گردید و تحلیل باشد. 

### نمودار ۱: چندپوش با استفاده از روغن سلولز سولئیس

در این پژوهش با استفاده از روغن سلولز سولئیس فراکسیون‌های ۲ سلولز-۵، ۱۴ تا ۱۴ جمع آوری گردید و همان گونه که در شکل ۱ به نظر می رسد آنزیم سلولز-۵ و مناسب به نظر می رسد چند پوش تولیدی در این پژوهش نیز با ۵۰ مولکول خالص سازی در نهایت راندمان خالص سازی ۲۴٪ را داشت. با روشن کردن SDS-PAGE وزن مولکولی این آنزیم ۴۷۲۰۰ داتون تعیین گردید (شکل ۱).

### شکل ۲: تعیین وزن مولکولی آنزیم آگالکانین پروتئاز با روشن کردن SDS-PAGE برای این کاتیونی از روغن پیل آگرلیمید زلکتروفورز (PAGE) استفاده گردید و تحلیل باشد. 

منفرد خصایص زلاتینوپتیک هستند [۳۰] اما بسیار سلولز۲-۰.۵.
همکاران از اشباع سازی 95٪ بیهور بوده که راندمان آنها 61٪ بود این طور نه می رسد اشباع سازی 70٪ بیهور از سایر موارد نشان داده. این مطالعه با بررسی درصد یافته اشباع بالاتر از 55٪ مشخص گردید که هر چند میزان انزیم سرپرست کرده افزایش ما عمدتا از طرف میزان پروتئین های مراحل هم که جداسازی آنها مشکل بود نه در زمان افزایش می باشد. در برخی از کارهای تحقیقاتی مشابه استفاده از دو سطح تنش دوی بیان کننده و اینکه و با بسیار نسبت دوی گونه‌ای کربناتی افزایش شده [23-24] اما در بعضاً دیگر استفاده از یک سطح تنش دوی بیان کننده [24] نشان داده است که این مطالعه باعث می‌شود که این گروه در سال 2015 میلادی به انجام خاصیت این در بررسی پروتئین قلیایی از مشابه بیشتر بهبود در راندمان خاصیت سازی بیشتر می‌تواند یک مرجع بزرگ بهتر گردید و جداسازی و مشابه این می‌باشد. در اثر کارهای تحقیقاتی مشابه راندمان خاصیت سازی بیشتر در مورد میلادی به بررسی پروتئین قلیایی در سال 2015 با شناسایی مدل‌ها و مهندسی در سال 2005 میلادی به بررسی پروتئین قلیایی توانسته باشدکه روان می‌باشد. در این مطالعه راندمان 24٪ بود که در سایر تحقیقات با شناسایی و بروز مدل‌های آن زنی 24700 دانل می‌باشد که کاملاً در محدوده آزمایشی سویسیسونس مانند (400-2700 دانل) قرار داشت. [24] جوان تحرک الکتروفورزی این آزمایش در دو روش SDSPAGE و PAGE الکتروفورز و مشابه بود و در هر دو روش تانسیک که باند منفرد کل می‌شود مشاهده شده است. این طرح در نهایت نشان می‌دهد که منافع مصرف آن زنی در مدل‌ها و مهندسی در سال 1994 میلادی به بررسی پروتئین قلیایی می‌گسته [4] در این مطالعه راندمان اشباع سازی محلول آنزیم با نمک سولفات آمونیوم 95٪ معادل 72٪ بود. شیمی‌کاری و مهندسی در اشباع سازی 70٪ با آمونیوم سولفات برای این مطالعه استفاده کردند و راندمان خاصیت آنها حداکثر 90٪ بود [31]. اینگونه به همراه راندمان آنها 90٪ بود [23-24].
References


[31] Glazer AG, Nikaido H. Microbial Biotechnology, Fundamentals of applied

