|  |
| --- |
| **نام خانوادگي دانشجو :** حميدزاده مقدم **نام** : زهرا |
| **عنوان پايان نامه**:  همسانه­سازي ژني و تعيين خصوصيات ساختاري آنزيم كربوكسي­متيل­سلولاز حاصل از Bacillus sp.z14 |
| **استاد راهنما**: دکتر صابر زهري  **استاد مشاور :** دکتر سعيد لطيفي نويد |
| **مقطع تحصيلي**: کارشناسي ارشد **رشته**: زيست شناسي  **گرايش**: علوم سلولي و مولکولي **دانشگاه**: محقق اردبيلي  **دانشكده**: علوم **تاريخ فارغ التحصيلي:** /11/1391 **تعداد صفحه** : 123 |
| **كليد واژه­ها**: سلولاز، گليكوزيل­هيدرولاز، اندوگلوكاناز، کربوکسي­متيل سلولاز، باسيلوس. |
| **چکيده**­  سلولازها گروهي از آنزيم­هاي گليکوزيل هيدرولازند که پيوندهاي – 1,4 β سلولز را هيدروليز مي کنند و به سه دسته كلي اندوگلوكانازها، اگزوگلوكانازها و β-گلوكوزيدها تقسيم مي شوند. اندوگلوكانازها پيوندهاي بتاگلوكوزيدي را به طور اتفاقي در نواحي داخلي زنجيره سلولز قطع نموده و توليد قطعات كوتاه اليگوساكاريدي مي كنند. سويه­هاي باسيلوس توانايي توليد انواعي از آنزيم­هاي خارج سلولي هيدروليتيک و مهم از لحاظ صنعتي ازقبيل سلولازها را دارا هستند. انواع مختلفي از اندوگلوكانازهاي گونه هاي باسيلوس، شناسايي و كلون شده اند؛ كه علاوه بر كاربردهاي بيوتكنولوژيكي، از نظر اقتصادي نيز در صنعت كاربرد وسيعي پيدا كرده اند. در این تحقيق، باكتري Bacillus sp.Z14 رادر اختيار داشتيم که قادر به توليد يك كربوكسي متيل سلولاز با پايداري حرارتي قابل ملاحظه بود. اين آنزيم توسط ستون كروماتوگراقي تعويض يوني DEAE- sepharose تخليص گرديد. وزن مولكولي آنزيم خالص با استفاده از SDS\_PAGE و زايموگرافي KDa25.71 تخمين زده شد. پارامترهاي كينتيکي *Km*  و *Vmax* با استفاده از نمودار لينور-برک براي آنزيم خالص به ترتيب برابر با mg/ml 54/4 و µmol/min/mg 125 تعيين گرديد. بر اساس توالي ژن *16S rDNA*، سويه باكتري توليد كننده آنزيم، به صورت *Bacillus pumilus* مشخص شد. ژن كد كننده آنزيم سلولاز اين باكتري همراه با نواحي بالادست و پايين­دست آن، در داخل وكتور pTG19-T كلون گرديد. نتايج حاصل از تعيين توالي نشان داد كه ناحيه ORF‌ اين ژن شامل 1981 نوكلئوتيد مي باشد كه پروتئيني با 616 آمينواسيد را كد مي كند. اين پروتئين تشابه بالايي با سلولازهاي ساير باكتري هاي B.pumilus نشان مي دهد و از يك دومين كاتالتيك از خانواده 9 گليكوزيل هيدرولازها و يك دومين متصل شونده به سلولز از نوع 3 تشكيل شده است. از آن جايي که اين آنزيم توانايي هيدروليز سوبستراهاي طبيعي از قبيل کاه و سبوس­گندم را دارد، مي­تواند در خوراک دام و تجزيه­ي مواد ليگنوسلولزي تيمارشده کاربرد داشته باشد. |