**أطاريح الدكتوراه لسنة 2003**

|  |
| --- |
| **جـــــامـــعــة بـــــــغــداد** |
| **اسم الكلية** | **معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية** |
| **القسم** | **التقنيات الاحيائية** |
| **اسم المشرف** | **د. عصام فاضل علوان الجميلي د. شذى سلمان حسن** |
| **اسم الباحث** | **منتهى عبد الكريم شهاب الصفار**  |
| **الايميل** |  |
| **الدرجة العلمية** |  **مدرس مساعد**  |  **مدرس**  |  **استاذ مساعد** |  **استاذ** |
|  |  **ماجستير** |  **دكتوراه**√ |
| **عنوان الاطروحة** | **إنتاج وتنقية وتوصيف الإنزيم المحلل للدهون (Lipase) من بكتريا Serratia odorifera المعزولة محلياً** |
| **السنة** | **2003** |
| **اللغة** | **عربي** |
| **الخلاصة** | **عزلت بكتريا Serratia من مصادر مختلفة شملت التربة والمياه والنباتات والحشرات ومن مصادر سريرية ( الادرار والقشع والجروح) .** **أظهرت الغربلة شبه الكمية على الوسط الانتقائي الصلب قابلية 50 عزلة على إنتاج أنزيم اللايبيز بكفاءة مختلفة من خلال تكوينها منطقة الترسيب حول المستعمرة . أنتخبت العزلة S.odorifera SME14 لكونها العزلة الاغزر إنتاجاً للانزيم من بقية العزلات وأستخدمت في الدراسة الحالية .** **تضمنت الظروف المثلى لإنتاج أنزيم اللايبيز بآستخدام المزارع المغمورة 1.5% زيت الزيتون و 1.5% كبريتات الامونيوم وتلقيح الوسط الغذائي بـ 9 × 104 خلية / مليليتر عند رقم هيدروجيني ابتدائي مقداره 7.5 بعد 48 ساعة من الحضن على درجة حرارة 28 مئوية بنسبة مساحة سطحية / حجم بمقدار 60 مليليتر / دورق حجم 250 مليليتر بالحاضنة الهزازة بسرعة 120 دورة / دقيقة . وعند التحري عن وجود بعض الفعاليات الانزيمية في المستخلص الخام لانزيم اللايبيز تبين احتواؤه على انواع من الانزيمات هي الاميليز والبروتييز والانزيم المحلل للـ DNA والسليوليز والاستريز.** **نقي أنزيم اللايبيز بآستخدام طريقتين تضمنت الطريقة الاولى عدة خطوات شملت الترسيب بكبريتات الامونيوم بنسبة تشبع 50% وكروماتوغرافيا التبادل الايوني بآستخدام المبادل الايوني ثنائي أثيل أمينوأثيل سليلوز (DEAE-Cellulose) ، ثم الترشيح الهلامي على عمود السيفاكريل S-200 وكانت عدد مرات التنقية 20.42 بحصيلة إنزيمية مقدارها 42.3%** **وتضمنت الطريقة الثانية تقنية النظام المائي ثنائي الطور بأستخدام البوليمر المكون من PEG(6000) 60% و CMC 4% مع إضافة تراكيز متدرجة من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (KH2PO4) وكبريتات الصوديوم (Na2SO4) ، ولوحظ آختلاف في الفعالية الانزيمية والفعالية النوعية ومعامل الفصل مع أختلاف نوع وتركيز الملح ، كانت أعلى قيمة لمعامل الفصل 2.69 عندما أضيف للنظام كبريتات الصوديوم بتركيز 0.1 مولر . وظهرت قمة للفعالية النوعية في الطور السفلي من النظام PEG(6000) 60% و CMC 4%بوجود 0.1 مولر فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين .** **تمت تنقية الانزيم الى حد التجانس اذ ظهرت حزمة واحدة للبروتين عند إجراء الترحيل الكهربائي على هلام الاكريل أمايد المتعدد بغياب ووجود المواد الماسخة للبروتين (SDS) كما ظهرت حزمة واحدة للانزيم عند تعيين نقطة تعادل الشحنة . وبينت نتائج توصيف الانزيم ان وزنـه الجزيئي 44.668 كيلودالتن بطريقة الترحيل الكهربائي في هلام الاكريل أمايد المتعدد بوجود (SDS) و 53.500 كيلو دالتن عند تعيينه بطريقة الترشيح الهلامي . وكانت قيمة نقطة تعادل الشحنة (pI) مساوية الى 7.5 ، وكانت قيم الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية وثبات الانزيم 7.5 و (7.0-8.5) على التوالي. كما ظهر أن الانزيم مكون من جزئين مرتبطين لا تساهمياً مكون من 25% كاربوهيدرات وجزء بروتيني ، آختبرت كفاءة أنواع من الدوارئ وتراكيزها في فعالية أنزيم اللايبيز، ولوحظ أعلى فعالية نوعية عندما يكون تركيز المحلول الدارئ كلوريد الامونيوم-هيدروكسيد الامونيوم 0.05 مولر وعند رقم هيدروجيني 8.0 .** **أحتفظ الانزيم بكامل فعاليتـه عند حضنه لمدة 15 دقيقة في درجات حرارة من (20-40) مئوي ، في حين آحتفظ بحوالي 80% من فعاليته عند حضنه للمدة نفسها في درجة حرارة 55 مئوي وقد انخفضت الفعالية بشكل كبير عند حضن الانزيم بدرجة 65 مئوي ، ولوحظ أن أقصى فعالية للانزيم كانت عند درجة 40 مئوي. وان طاقة التنشيط لتحويل المادة الاساس الى ناتج 3.586 كيلو سعرة / مول ، في حين كانت قيمة طاقة التنشيط لمسخ الانزيم 30.41 كيلوسعرة / مول.**  |