NCMBJ
Research article

New Cell Mol Biotech
j.13/49 , 2023

Scan online to view this article

# Evaluation of rhamnosyl transferase enzyme expression in the bio surfactant production pathway of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in the presence of SDS-based iron nanostructure

**Yaser Ahsani Arani[1], Zahra Noormohammadi[1], Behnam Rasekh[2*], Fatemeh Yazdian[3], Hojjat Kazemi [4]**

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Director Environment & Biotechnology Research Division, Research Institute of Petroleum Industry (RIPI), Tehran, Iran
3. Department of Life Science Engineering, Faculty of New Science and Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran
4. Analytical Chemistry Research Group, Research Institute of Petroleum Industry (RIPI), Tehran, Iran

**Aim and Background**: *Rhamnolipids* are one of the most important bio surfactants of glycolipids produced by Pseudomonas aeruginosa. In this study, the expression of bio surfactant producing proteins of Pseudomonas aeruginosa in the presence of sodium dodecyl sulfate coated iron nanostructure (Fe/SDS) were evaluated.

**Materials and Methods:** The expression of Surfactant Protein A enzyme was investigated by SDS-PAGE and Western blot. The enzyme rhamnosyl transferase was analyzed on SDS-PAGE gel and confirmed by Western blotting. The presence of nanoparticles on the surface of bacteria and the morphology of nanoparticles were investigated by TEM and SEM.

**Results:** According to SEM, nanoparticles with a size of 20 nm and a spherical shape were seen. Binding of Fe / SDS nanoparticles to bio surfactant was confirmed by TEM. The enzyme rhamnosyl transferase with a molecular weight of 40 kDa was expressed in the test sample. The results of protein expression showed that the confirmed of rhamnosyl transferase enzyme increased significantly under the influence of Fe/SDS nanoparticles and showed the confirmed compared to other nanoparticles and the control sample. While SDS and Fe nanoparticles alone are not effective in confirmed this protein and are almost identical to the control sample. Western blotting results of SDS-PAGE confirmed the expression of *rhamnolipid* transferase under the influence of Fe/SDS nanoparticles.

**Conclusion:** The results of the present study indicate the importance of Fe/SDS nanoparticles in increasing the expression of *rhamnolipid* transferase enzyme in the production of bio surfactants from Pseudomonas aeruginosa.

**Keywords:** Bio surfactant, Fe/SDS nanoparticle, Pseudomonas aeruginosa, Western blot, SDS-PAGE, Iau Science

**Corresponding author:**
Research Institute of Petroleum Industry (RIPI), Tehran, Iran
**Email:** rasekhb@ripi.ir

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۳ - شماره۴۹ - زمستان ۱۴۰۱
NCMBJ
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

# بررسی بیان آنزیم رامنوزیل ترانسفراز در مسیر تولید بیوسورفکتانت باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* درحضور نانوساختار آهن برپایه SDS

یاسر احسنی ارانی[۱]، زهرا نورمحمدی[۱]، بهنام راسخ*[۲]، فاطمه یزدیان[۳]، حجت کاظمی[۴]

۱. گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه پژوهش میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت تهران، تهران، ایران
۳. گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴. گروه پژوهش شیمی تجزیه، پژوهشگاه صنعت نفت تهران، تهران، ایران

## چکیده

**سابقه و هدف:** رامنولیپیدها از مهم‌ترین بیوسورفکتانت‌های گلیکولیپیدی تولید شده توسط باکتری *سودوموناس‌آئروژینوزا* هستند. در این مطالعه بیان پروتئین‌های تولیدکننده بیوسورفکتانت باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در حضور نانوساختار آهن با پوشش سدیم‌دودسیل سولفات (Fe/SDS) مورد ارزیابی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** بیان آنزیم *رامنوزیل ترانسفراز* (Surfactant Protein A) توسط SDS-PAGE و وسترن‌بلات بررسی گردید. آنزیم *رامنوزیل ترانسفراز*، روی ژل SDS-PAGE آنالیز شد و توسط وسترن‌بلات تأیید گردید. وجود نانوذرات برسطح باکتری توسط TEM و مورفولوژی نانوذرات توسط SEM بررسی گردید.

**یافته‌ها:** مطابق SEM، اندازه نانوذرات ۲۰ نانومتر و کروی شکل دیده شد. اتصال نانوذرات Fe/SDS به بیوسورفکتانت توسط TEM تأیید شد. آنزیم رامنوزیل ترانسفراز با وزن مولکولی۴۰ کیلودالتون در نمونه آزمون بیان شد. بررسی نتایج بیان پروتئین نشان داد، حضور آنزیم رامنوزیل ترانسفراز تحت تأثیر نانوذرات Fe/SDS افزایش پیدا کرد و نسبت‌به نانوذرات دیگر و نمونه کنترل بالاترین حضور را نشان داد، درحالی‌که نانوذرات SDS و Fe به‌تنهایی در تأیید پروتئین مذکور مؤثر واقع نشده و کمابیش مشابه نمونه کنترل است. نتایج وسترن بلاتینگ SDS-PAGE تأییدی بر آنزیم رامنوزیل ترانسفراز تحت تأثیر نانوذرات Fe/SDS بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج پژوهش حاضر بیانگر اهمیت نانوذرات Fe/SDS در تأیید آنزیم *رامنوزیل‌ترانسفراز* در مسیر تولید بیوسورفکتانت از *سودوموناس آئروژینوزا* است.

**واژگان کلیدی:** بیوسورفکتانت، Fe/SDS، *سودوموناس آئروژینوزا*، وسترن بلات، SDS-PAGE، Iau Science

## مقدمه

گروهی از میکروارگانیسم‌های موجود در طبیعت قادر به ترشح مواد برون سلولی[۱] از جمله آنزیم‌ها و ترکیبات فعال‌کننده سطحی به نام بیوسورفکتانت هستند (۱). تحقیق و توسعه بیوسورفکتانت-ها و تجاری‌سازی آن‌ها، طی سال‌های گذشته شاهد شتاب چشم-گیری بوده است (۲). فعالیت سطحی، بیوسورفکتانت‌ها را به امولسیون‌کنندگان عالی و کف‌زا تبدیل کرده است (۳،۴). بیوسورفکتانت‌ها یکی از فرآورده‌های مهم میکروبیولوژی صنعتی هستند وتوسط باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها در فاز سکون[۲] تولید می‌شوند (۵). برخی ویژگی‌های شاخص بیوسورفکتانت‌ها که سبب برتری آن‌ها در مقایسه با سورفکتانت‌های شیمیایی می‌شود شامل: کاهش کشش‌سطحی و بین سطحی، سمیّت پایین، زیست‌تخریب‌پذیری بالا، امولسیون‌کنندگی، عملکرد انتخابی،

**نویسنده مسئول:**
گروه پژوهش میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی، پژوهشگاه صنعت نفت تهران
پست الکترونیکی: rasekhb@ripi.ir
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۶

[1] Extra Cellular
[2] Stationary Phase


[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

فعالیّت اختصاصی، امکان تولید از مواد خام ارزان قیمت، خواص ضدمیکروبی، تولید آسان‌تر و تنوع بیش‌تر بیوسورفکتانت‌ها (۶). کاهش در اندازه کشش‌سطحی محیط کشت نشان‌دهنده تولید مواد دارای فعالیت سطحی توسط کشت‌های باکتریایی است (۷). عمده فعالیت بیوسورفکتانت‌ها صنایع نفت است که به‌عنوان پاکسازی نفت وآلودگی‌زدایی ترکیب‌های آلی، افزایش دسترس-پذیری زیستی این ترکیب‌ها، جابه‌جایی و حذف آلودگی با حلال-پذیری و امولسیون‌سازی در طول پاک‌سازی، حذف باقی‌مانده نفت از تانک‌های ذخیره‌ای، ازدیاد برداشت نفت و تصفیه‌زیستی خاک و آب می‌توانند استفاده شوند (۸). رامنولیپیدها از مهم‌ترین بیوسورفکتانت‌های گلیکولیپیدی هستند که توسط دو گونه باکتریایی *سودوموناس‌آئروژینوزا*[3] و *بورخولدریا*[4] تولید می‌شوند (۹). گونه‌های متعلق‌به جنس *سودوموناس* بزرگترین مولدین رامنولیپید هستند. *سودوموناس* از مهم‌ترین باکتری‌های خاک‌زی است که می‌تواند هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای را شکسته و رامنولیپید، کینولون، سیانیدهیدروژن و لکتین تولید کند. *سودوموناس آئروژینوزا* دو نوع مختلف رامنولیپید تولید کرده که در تعداد قند رامنوز متفاوت است. مونورامنولیپید و دی-رامنولیپید جزء رامنولیپیدهای اصلی هستند. این مولکول‌ها دارای فعالیّت سطحی بسیار زیادی بوده و در زمینه‌های مختلف پزشکی به‌عنوان ضد قارچ، ضد باکتری و ضدویروس کاربرد دارند. کاربرد دیگر رامنولیپیدها در صنعت نفت به‌منظور افزایش بازیافت نفت به روش میکروبی و حذف آلاینده‌های نفتی از محیط زیست و هم‌چنین پاک‌سازی نفت‌کش‌ها و حمل ونقل و انتقال آسان‌تر نفت خام است (۱۰). یکی از روش‌های بازیافت و جداسازی بیوسورفکتانت‌ها استفاده از نانوذرات مغناطیسی آهن است (۱۱). امروزه مطالعه اثرات نانوذرات فلزی به‌روی رشد باکتری‌ها و تولید بیوسورفکتانت‌ها حائض اهمیّت است. تحقیقات اخیر خواص آنتی باکتریال نانوذرات را نشان داده که علت آن تخریب فیزیکی دیواره سلولی، یا ایجاد استرس اکسیداتیو است (۱۲). اثر نانوذرات آهن و مشتقات آن مانند اکسیدآهن و یا آهن پوشش‌دار، روی فرایندهای مختلف باکتریایی مانند میزان رشد باکتری، مورد مطالعه قرار گرفته است. فرآیند پوشش‌دارکردن نانوذره آهن اغلب به‌دلیل کاهش میزان اکسیدکنندگی این نانوذره است (۱۳). Rezazadeh و همکاران تولید بیوسورفکتانت زیستی توسط *سودوموناس‌آئروژینوزا* با استفاده از نانوذرات آهن/نشاسته را بررسی کردند. در این مطالعه، نانوذرات آهن پوشیده با نشاسته هیچ سمیت باکتریایی را در ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان نداد و سرعت رشد و تولید بیوسورفکتانت تا ٪۲۰/۶۲ افزایش داد (۱۴). Kiran و همکاران اثر نانوذرات Fe بر میزان تولید بیوسورفکتانت *Nocardiopsis sp.* MSA13A را بررسی کردند. طبق نتایج نانوذرات آهن نه نت‌ها سبب کاهش رشد باکتری و تولید بیوسورفکتانت نشد، بلکه سبب افزایش ٪۸۰ میزان تولید بیوسورفکتانت این باکتری شد (۲۵). در مطالعه Modabber و همکاران، بررسی اثرنانوذرات $Fe^0$ و $Fe^{3+}$ پوشیده شده با نشاسته برمیزان تولید سورفکتین حاصل از *باسیلوس‌سوبتیلیس* انجام شد (۱۵). مطالعه‌ها نشان داده بیان اکثر ژن‌های باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* به‌وسیله سیستم ژنی کروم سنسینگ (QS)[5] کنترل و تنظیم می‌گردند (۱۶). مطابق با مسیر ژنتیکی سنتز بیوسورفکتانت در *سودوموناس آئروژینوزا*، ژن‌های مرتبط با تولید بیوسورفکتانت شامل *rhlA*، *rhlB*، *lasR/I*، *rhlR/I*، *pqsR/pqsA* است (۱۷). آنزیم رامنوزیل ترانسفراز (Surfactant Protein A) محصول ژن *rhlA* است که دارای وزنی حدود ۳۲,۵ کیلودالتون است، که به‌واسطه یکسری گروه-های قندی و تغییرهایی پس از ترجمه‌ای، روی ژل آگارز و روی غشا وسترن در وزن سنگین‌تری (حدود ۳۷ کیلودالتون) قرار می-گیرد. ژن *lasI* تولید الاستاز، اگزوتوکسین A و آلکالین پروتئاز را تنظیم می‌کند. در حالی که ژن *rhlI* مسئول تنظیم تولید رامنولیپید، آلکالن پروتئاز، الاستاز و سیانید است (۱۸). علی‌رغم اهمیت اکولوژیکی بیوسورفکتانت از *سودوموناس آئروژینوزا*، تحقیقات بسیار کمی در مورد چگونگی مکانیسم اثر نانوذرات بر پروتئین‌ها و سیستم‌های کنترلی مرتبط با آن‌ها انجام شده است. نانوذرات آهن انتخاب شده در این تحقیق، آهن با پوشش سدیم دودسیل سولفات (Fe/SDS) است. انتخاب SDS به‌عنوان پوششی برای نانوذره‌آهن به‌دلیل استفاده از این دترجنت در صنایع مرتبط با حذف آلودگی‌های نفتی از محیط زیست به‌ویژه خاک صورت گرفته است (۱۹). در مطالعه Alamdar و همکاران[6]، اثر نانوذرات Fe/SDS و Au برمیزان رشد و تولید بیوسورفکتانت حاصل از *سودوموناس آئروژینوزا* PBCC5 بررسی شد (۲۰). اما در مورد چگونگی مکانیسم اثر این نانوذرات بر پروتئین‌ها بررسی انجام نشده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی بیان آنزیم رامنوزیل‌ترانسفراز در مسیرتولید و تنظیم بیوسورفکتانت باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* درحضور نانوساختار Fe/SDS از طریق وسترن بلات با روش SDS-PAGE ارزیابی گردید.

## مواد و روش‌ها

نانوذره Fe/SDS از شرکت مهندسی زیست تجهیز پارس تهران خریداری شد. بررسی اثر نانوذره روی باکتری در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر انجام شد (۲۰). از بافر نمکی ۷/۴ PBS pH، ۰/۲ g/l KCl، ۰/۲۷ g/l $KH_2PO_4$، ۸/۰۱ g/l NaCl، ۱/۷۸ g/l $Na_2HPO_4 . 2H_2O$ جهت ایجاد امولسیون پایدار برای نانوذره استفاده شد (۲۱،۲۲).

[3]-*Pseudomonas aeroginosa*
[4]- *Bourkholderia*

[5] Quorum sensing
[6]- Alamdar et al.



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

**میکروارگانیسم**

میکروارگانیسم مورد استفاده *سودوموناس آئروژینوزا* PBCC5 (توسط Rasekh و همکاران در سال ۲۰۰۸، از خاک‌های آلوده به نفت خام ایران ایزوله و جداسازی شد) از بانک ذخایر زیستی پژوهشکده صنعت نفت تهیّه شد. خصوصیت این باکتری گرم منفی و میله‌ای توسط روش‌های تشخیصی و مشاهده میکروسکوپی توسط چشم غیرمسلح، پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در محیط کشت نوترینت آگار، مورد بررسی قرار گرفت.

**تهیه منحنی رشد باکتری در محیط کشت ملاس**

ملاس استفاده شده در این تحقیق از کارخانه قند و شکر مرودشت شیراز تهیّه شد. دو نوع محیط کشت، محیط کشت نوترینت مایع جهت تهیّه کشت شبانه و محیط کشت ملاس ۱۵٪ (وزنی/حجمی) به‌عنوان محیط کشت اصلی برای رشد و تولید رامنولیپید تهیه شد. pH محیط توسط HCl ۱ مولار به ۷ رسانده و توسط دستگاه اتوکلاو استریل شد (۲۳). برای تهیّه منحنی رشد باکتری، پس از تهیّه کشت شبانه، تلقیح میکروبی به محیط کشت ملاس صورت گرفت و هر دوساعت در شرایط استریل ۲ میلی‌لیتر از محیط کشت نمونه‌گیری و شد باکتری بر اساس میزان تراکم سلولی توسط اسپکتوفتومتر در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲۴). در پژوهش‌های متعدد نانوذرات از طریق کاهش فاز Lag و افزایش فاز لگاریتمی و سکون سبب افزایش رشد میکروارگانیسم ها می‌شوند، بدین‌منظور ابتدا به محیط کشت باکتری اضافه می‌شوند. در این تحقیق، تلقیح نانوذرات در انتهای فاز Lag و ابتدای فاز لگاریتمی به محیط کشت باکتری صورت گرفت تا مشخص شود اگر نانوذرات پس از گذر باکتری از فاز Lag به محیط کشت اضافه شوند آیا بازهم روی رشد سلول‌ها و تولید بیوسورفکتانت اثرگذار هستند یا خیر (۲۱،۲۲).

برای حصول اطمینان از قرار گرفتن نانوذرات بر سطح باکتری و بررسی مورفولوژی سطح، تصویربرداری به کمک TEM و SEM (KYKY_EM3200 model) انجام شد. به این‌منظور، ۲۵ میکرولیتر از نمونه روی لام ریخته و محلول در مجاورت هوا خشک شد. نمونه‌ها چند ثانیه با طلا پوشش داده شدند تا رسانا شوند. مورفولوژی سطح توسط SEM بررسی گردید.

**تأیید نهایی بیان آنزیم رامنوزیل ترانسفراز به روش SDS-PAGE**

پس از آماده سازی نمونه‌های تست و کنترل، بیان پروتئین طبق پروتکل استاندارد SDS-PAGE انجام شد (۲۶).

**وسترن بلاتینگ به‌منظور تأیید نهایی بیان آنزیم رامنوزیل ترانسفراز**

هدف از آزمایش وسترن بلات تأیید بیان و ارزیابی آنتی ژنیسیته آنزیم رامنوزیل ترانسفراز است. به‌منظور شناسایی آنتی‌ژن‌های اختصاصی، ورقه‌ای از غشاء نیتروسلولز به اندازه ژل پلی‌اکریلامید بریده شد و روی ژل انتقال یافت، به‌عنوان بافر مسدودکننده از شیر خشک بدون چربی ٪۳-۵ در بافر تریس‌نمکی (TBS) استفاده شد. پس از مرحله مسدودسازی، غشا ۱ بار در TBS-T (بافرتریس نمکی‌حاوی توین ٪۰/۰۵) شسته شد، ۱-۲ ساعت در آنتی‌بادی اولیه (anti–surfactant protein A/PSAP) (پروتکل شرکت abcam آمریکا)، رقیق شده درTBS-T قرار گرفت. غشا ۳ مرتبه، در TBS-T شسته شد و ۱-۲ ساعت در آنتی‌بادی ثانویه (آنتی‌بادی کونژوگه با آنزیم HRP) قرار داده شد. غشا پس از شستشو در TBS-T، در معرض محلول سوبسترای آنزیم پراکسیداز قرار گرفت. پس از ظهور باندها غشا با آب مقطر شسته و خشک و در تاریکی قرار داده شد (۲۷).

## نتایج

**منحنی رشد باکتری**

شکل ۱ منحنی رشد به‌دست آمده از باکتری *سودوموناس-آئروژینوز PBCC5* است. طبق منحنی رشد، باکتری در ۱۰ امین ساعت از رشد خود فاز Lag را پشت سر گذاشته و وارد فاز لگاریتمی می‌شود و مرحله سکون باکتری در ۲۸ امین ساعت آغاز می‌شود که تولید رامنولیپید در این مرحله از رشد باکتری صورت می‌گیرد.

**مورفولوژی نانوذره Fe/SDS با باکتری**

شکل ۲ تصویر SEM نانوذره Fe/SDS را نشان می‌دهد، مطابق تصویر نانوذره کروی شکل و اندازه ۲۰nm دیده شد.

برای حصول اطمینان از قرار گرفتن نانوذره بر سطح باکتری تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) انجام شد. تصویر به‌دست آمده (شکل ۳) نشان‌دهنده قرار گرفتن نانوذرات روی سطح و غشاء باکتری است. مجاورت کردن نانوذرات Fe/SDS با باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در آغاز



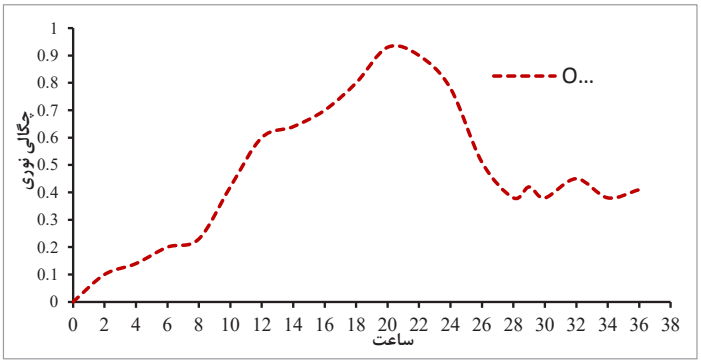
[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

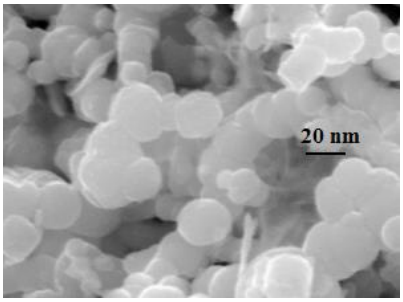
فاز رشد باکتری و در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر، انجام شد و نتایج با نمونه کنترلی (بدون حضور نانوذره) مقایسه گردید.

### وسترن بلات و SDS-PAGE به‌منظور تأیید نهایی بیان آنزیم رامنوزیل ترانسفراز

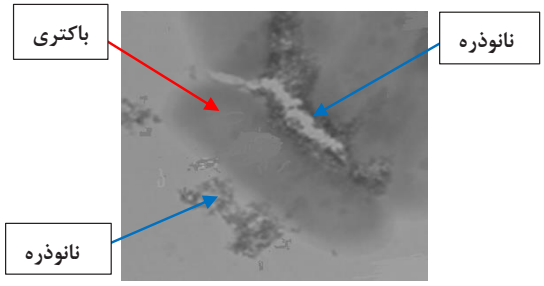
همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود وجود سورفکتانت پروتئین مذکور تحت تأثیر نانوذرات Fe/SDS افزایش پیدا کرده و نسبت‌به نانوذرات دیگر و نمونه کنترل بالاترین را نشان داده است. نانوذرات SDS و Fe به‌تنهایی در تأیید وجود سورفکتانت پروتئین مذکور موثر واقع نشده و کمابیش مشابه نمونه کنترل است. نتایج وسترن بلاتینگ SDS-PAGE تأییدی بر وجود آنزیم رامنوزیل ترانسفراز تحت تأثیر نانوذرات Fe/SDS بود. مطابق شکل ۵، آنزیم رامنوزیل ترانسفراز با وزن مولکولی ۴۰ کیلودالتون در نمونه آزمون بیان شد.




شکل ۱. منحنی رشد باکتری *Pseudomonas aeruginosa PBCC5* در محیط کشت ملاس.



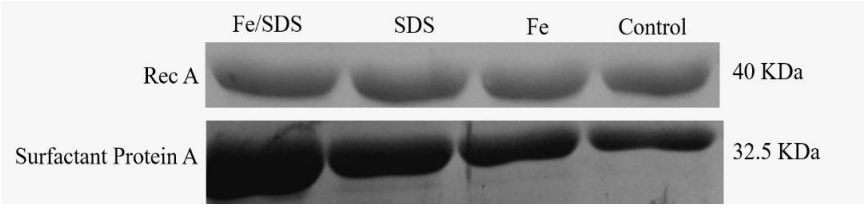

شکل ۲. تصویر SEM نانوذره Fe/SDS.



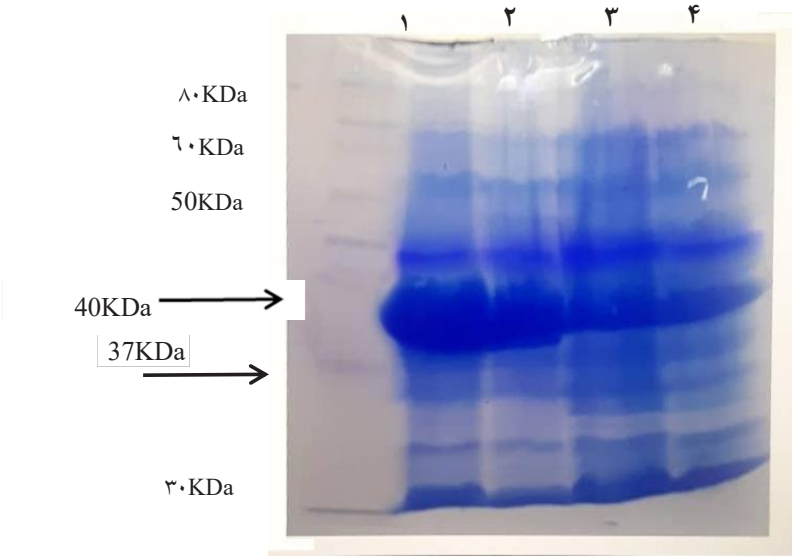

شکل ۳. تصویر TEM باکتری همراه نانوذره Fe/SDS، فلش قرمز نشان‌دهنده باکتری و فلش آبی نانوذره را نشان می‌دهد.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]




شکل ۴. وسترن بلاتینگ آنزیم رامنوزیل ترانسفراز.




شکل ۵. تأیید آنزیم رامنوزیل ترانسفراز (۳۷ KDa) با SDS-PAGE، پروتئین RecA (۴۰ KDa) به‌عنوان پروتئین مارکر وسترن بلات. ستون ۱: نانوذرات Fe/SDS، ستون ۲: نانوذرات Fe، ستون ۳: نمونه SDS، ستون ۴: نمونه کنترل

## بحث

توانایی میکروارگانیسم‌ها در تولید بیوسورفکتانت‌ها سبب شده است میکروارگانیسم‌های متنوعی در تولید بیوسورفکتانت‌ها مورد توجه قرار گیرند. *سودوموناس* (باکتری گرم منفی، میله‌ای غیر تخمیری، اکسیداز و کاتالاز مثبت) یکی از این میکروارگانیسم‌هاست که با توجه‌به توانایی زیاد در استفاده از منابع مختلف کربن در حذف آلاینده‌های زیستی و حضور در بیش‌تر مکان‌ها مورد توجه خاصی قرار گرفته است. امروزه از این باکتری‌ها در مهندسی ژنتیک استفاده می‌شود و نقش بسیار مهمی در فعالیت‌های متابولیکی محیط زیست مانند چرخه عناصر و تجزیه آلاینده‌های ناشی از فعالیت های زیستی و غیر زیستی بازی می‌کند. توانایی *سودوموناس* در زمینه عملیات و فعالیت‌های بیوتکنولوژی بویژه در زمینه تجزیه زیست محیطی آلاینده‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. *رامنولیپید* در صنایع نفت برای پاک‌سازی فیلترهای تصفیه لجن‌های نفتی و پاکسازی تانک‌های ذخیرهٔ نفتی و تیمار بیولوژیک فاضلاب‌های نفتی حائز اهمیت است (۲۸). سیستم‌های بیولوژیکی به‌طور حیاتی نیاز به درک اساسی در مورد تأثیر نانوذرات بر رشد و عملکرد باکتری‌ها دارد. امروزه تحقیقات متعددی در زمینه مطالعه اثرهای نانوذرات فلزی روی رشد باکتری‌ها و تولید بیوسورفکتانت ها در زمینه‌های



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

مختلف صنعتی انجام گرفته است. اثر نانوذرات مختلفی چون Fe/Au $Fe_3O_4$ ,Fe, Au به روی رشد باکتری‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که برهم‌کنش نانوذرات فلزی-باکتری در سطح سلولی وجود دارد که می‌توان از آن برای کاربردهای بیولوژیکی سودمند استفاده کرد. طبق نتایج مطالعه Alamdar و همکاران، در غلظت ۱ میلی‌گرم برلیتر از نانوذره Fe/SDS، رشد باکتری و تولید بیوسورفکتانت به‌ترتیب ٪۲۳/۲۱ و٪۲۰/۷۳ افزایش می‌یابد. بررسی اثرهای نانوذرات طلا نشان داد این نانوذرات روی *سودوموناس آئروژینوزا* PBCC5 اثر منفی نداشته و باعث افزایش رشد باکتری نیز شده است (۲۰). Sahebnazar و همکاران به‌منظور افزایش رشد *سودوموناس آئروژینوزا* و افزایش تولید رامنولیپید از نانوذرات آهن-سیلیکا در محیط کشت ملاس استفاده کردند. استفاده از نانوذرات در غلظت mg/l ۶۰۰ منجر به افزایش ٪۲۵ رشد در زمان ۱۸ ساعت پس از انکوباسیون شد، بیش‌ترین میزان تولید رامنولیپید در غلظت mg/l ۱ پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون رخ داد، در این غلظت تولید بیوسورفکتانت رامنولیپید نسبت به نمونه کنترل ٪۵۷ افزایش داشت. نتایج نشان داد بیش‌ترین رشد باکتری و تولید بیوسورفکتانت درحضور٪۱۵ملاس و بدون نمک است (۲۳). هم‌چنین در گزارشی به بررسی اثر نانوذرات بر میزان بیان پروتئین باکتریایی پرداخته شد. نتایج نشان دهنده افزایش بیان برخی از پروتئین‌ها در غلظت‌های خاص نانوذره است (۱۲).

در مطالعه Korpi و همکاران بیان و تخلیص پروتئین پیلین *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی شد. الکتروفورز پروتئین نشان دهنده وزن مولکولی پروتئین پیلین حدود ۹۱ کیلودالتون بود. هم‌چنین نتایج آزمون وسترن‌بلات تولید پروتئین نوترکیب را تأیید کرد. نتایج وسترن بلات و الیزا به موازات نتایج تعیین توالی نشان‌دهنده صحت تولید پروتئین نوترکیب پیلین و حفظ ساختار نسبی آن است (۲۹)، که تأییدی بر نتایج تحقیق حاضر است.

در تحقیق حاضر تصویر TEM نانوذره Fe/SDS، نشان-دهنده قرار گرفتن نانوذرات روی سطح و غشاء باکتری است و به‌احتمال نانوذره در غلظت‌های مختلف از طریق افزایش سطح باکتری سبب افزایش تبادلات موادغذایی باکتری با محیط کشت شده و در نتیجه میزان رشد و تولید بیوسورفکتانت افزایش یافته است. در حالی‌که در غلظت‌های بالاتر اثرهای سمّی و منفی بر میزان رشد سلول‌ها و تولید بیوسورفکتانت داشته است.

طبق نتایج وسترن بلات و SDS-PAGE به‌منظور تأیید نهایی آنزیم رامنوزیل ترانسفراز، حضور این پروتئین تحت تأثیر نانوذرات Fe/SDS افزایش یافت و نسبت‌به نانوذرات دیگر و نمونه کنترل بیش‌ترین حضور را نشان داد که بیانگر اهمیت نانوذرات در افزایش حضور آنزیم رامنوزیل ترانسفراز در مسیر تولید بیوسورفکتانت از *سودوموناس آئروژینوزا* است.

در تحقیقی مشابه، نتایج PAGE-SDS و وسترن‌بلات که با علیه توالی پلی‌هسیتیدینی و آنتی‌سرم انسانی ضد *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد استراتژی تولید و تخلیص بکار برده شده کارآمد بوده و توانسته مشکلات ناشی از تجمع پروتئین را مرتفع سازد (۲۹).

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه بیان آنزیم رامنوزیل ترانسفراز درگیر در تولید بیوسورفکتانت باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در حضور Fe/SDS بررسی شد. نتایج وسترن بلات نشان داد حضور پروتئین مذکور تحت تأثیر نانوذرات Fe/SDS افزایش پیدا کرده و نسبت‌به نانوذرات دیگر و نمونه کنترل بیش‌ترین حضور را نشان داده است. نانوذرات SDS وFe به‌تنهایی در تأیید حضور پروتئین مذکور مؤثر واقع نشده و کمابیش مشابه نمونه کنترل بودند. نتایج وسترن بلاتینگ SDS-PAGE تأییدی بر وجود آنزیم رامنوزیل ترانسفراز تحت تأثیر نانوذرات Fe/SDS بود.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

## منابع

1. Biniarz P, Łukaszewicz M, Janek T. Screening concepts, characterization and structural analysis of microbial-derived bioactive lipopeptides: a review. Crit Rev Biotechnology. 2017; 37: 393–410.

2. Henkel M, Hausmann R. Chapter 2-Diversity and Classification of Microbial Surfactants, Biobased Surfactants (Second Edition), Synthesis, Properties, and Applications. 2019; 41-63.

3. Nayarisseri A, Singh P, Singh SK. Screening, isolation and characterization of bio surfactant producing Bacillus subtilis strain ANSKLAB03. Bioinformatics. 2018; 14(6): 304-314.

4. Meliani A, Bensoltane A. The Ability of Some Pseudomonas Strains to Produce Biosurfactant. Meliani and Bensoltane. Poult Fish Wildl Sci. 2014; 2: 1.

5. Khajavi-Shojaei Sh, Moezzi AA, Enayatizamir N. Investigation of bio surfactant production by Bacillus pumilus 1529 Bacillus subtilis WPI. Biol J Micro Org. 2016; 5(17): 97-110.

6. Bagheri Lotfaabad T, Shahceraghi F, shooraj F. Assessment of Antibacterial Capability of Rhamnolipids Produced by Two Indigenous *Pseudomonas Aeruginosa* Strains. Jundishapur J Microbiol 2013; 6 (1): 29-35.

7. Liu F, Liua D, Zhou W, Wang S, Chen F, Wei J. Weakening or losing of surfactant drag reduction ability: A coarse-grained molecular dynamics study. Chem Eng Sci.2020;219: 115610.

8. Kardena E, Helmy Q, Funamizu N. Bio surfactants and Soil Bioremediation. In: N. Kosaric, F. Vardar-Sukan & Sukan, eds. Bio surfactants Production and Utilization-Processes, Technologies, and Economics CRC Press New York. 2014; 327-360.

9. Fracchia L, Cavallo M, Martinotti M, Banat IM. Bio surfactants and Bio Emulsifiers Biomedical and Related Applications-Present Status and Future Potentials. In: Ghista DN. Biomedical Science, Eng Technol. Norderstedt: Books on Demand. 2012; 325-370.

10. Kask B, Yildiz S, Gumustas M, Ozkan SA. Bio surfactant production by *Psedomonas aeroginosa* in kefir and fish meal. Braz J Microbiol. 2015; 46(3): 855-859.

11. Bisch G, Ogier JC, Médigue C, Rouy Z, Vincent S, Tailliez P, Givaudan A, Gaudriault S. Comparative Genomics between Two Xenorhabdus bovienii Strains Highlights Differential Evolutionary Scenarios within an Entomo pathogenic Bacterial Species. Genome Biol Evolution. 2016 ; 8: 148-160.

12.Rezazadeh Mofradnia S, Yazdian F, Rashedi H, Rasekh B, Omidi M, Sheikh pour M, Esmaeili Bidhendi M. Experimental and Simulation of Nanoparticle Capability for Biosurfactant Production Using in MEOR. J App Biotechnol Reports. 2017; 4(2): 177.

13. Ahmed SA. Natural quorum sensing inhibitors effectively downregulate gene expression of Pseudomonas aeruginosa virulence factors. Appl Microbiol Biotechnol. 2019; 103(8): 3521-3535.

14. Rezazadeh Mofradnia S, Tavakoli Z, Yazdian F, Rashedi H, Rasekh B. Fe/starch nanoparticle-*Pseudomonas aeruginosa:* Bio-physiochemical and MD studies. In J Biol Macromol. 2018; 117: 51–61.

15. Modabber G, Akhavan Sepahi A, Yazdian F, Rashedi H. Surfactin Production in the Bioreactor: Emphasis on Magnetic Nanoparticles Application, Eng in Life Sci. 2020; 1-10.

16. Reis RS, Pereira AG, Neves BC, Freire DMG. Gene Regulation of rhamnolipid production in *Pseudomonas aeruginosa*--a review. Biores Technol. 2011; 102: 6377-6384.

17. Sharma G, Rao S, Bansal A, Dang S, Gupta S, Gabrani R. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: potential therapeutic targets. Biologicals. 2014; 42(1):1-7.

18. Senturk S, Ulusoy S, Bosgelmez-Tinaz G, Yagci A. Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during urinary tract infections. J Infect Dev Ctries. 2012; 6(6): 501-7.



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

19. Xu Y, Wang Ch, Hou J, Wang P, You G, Miao L. Mechanistic understanding of cerium oxide nanoparticle-mediated biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. Environ Sci Pollu Res. 2018; s11356-018-3418-8.

20. Alamdar N, Rasekh B, Yazdian F. Effects of Fe/SDS and Au nanoparticles on P. aeroginosa bacterial growth and bio-surfactant production. IET Nano biotech. 2018; ۱۲(٤):520-525.

21. Lia J, Vipulanandan C. Effects of Au/Fe and Fe nanoparticles on Serratia bacterial growth and production of biosurfactant. Mater Sci Eng. 2013; 33(7): 3909-3915.

22. Liu J, Vipulanandan C, Cooper TF, Vipulanandan G. Effects of Fe nanoparticles on bacterial growth and bio surfactant production. J Nanopart Res. 2013; 15:1405.

23. Sahebnazar Z, Mowla D, Karimi Gh. Enhancement of Pseudomonas Aeruginosa Growth and Rhamnolipid Production Using Iron-Silica Nanoparticles in Low-Cost Medium. J Nanostruct. 2018; 8(1): 1-10.

24. Chatterjee S, Bandyopadhyay A, Sarkar K. Effect of iron oxide and gold nanoparticles on bacterial growth leading towards biological application. J Nano biotechnol. 2011; 9 (34): 1-7.

25. Kiran GS, Nishanth LA, Priyadharshini S, Anitha K, Selvin J. Effect of Fe nanoparticle on growth and glycolipid bio surfactant production under solid state culture by marine Nocardiopsis sp. MSA13A. BMC Biotechnol 2014; 10: 14-48.

26. Seyedinkhorasani M, Keramati M, Ahangari Cohan R, Roohvand F, Norouzian Dm. Evaluation and comparison of affinity chromatography and precipitation–based methods on purification of recombinant streptokinase. Med Sci J Islamic Azad Uni, Tehran Med Branch. 2020; 30(4): 387 -395.

27. Towbin H, staehelin T, Gordon J. electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc Natl Acad Sci. 1979; 76 (9): 4350-5354.

28. Nelson KE. Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile Pseudomonas Putida KT2440. Environ. Microbiol 2002; 4(12): 799–808.

29. Korpi F, Behrouz B, Motameifar M, Irajian G. Cloning, expression and purification of Pseudomonas aeruginosa pilin protein in the prokaryotic host. Iran J Med Microbiol. 2016; 9 (4):55-62

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1401.13.49.10.4 ]