مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی – ملکولی
دوره پنجم، شماره هجدهم – بهار ۱۳۹۴

Research Article
مقاله تحقیقی

غربالگری ملکولی سراشیامارسیسنس تولید کننده آنزیم سراشیوپپتیداز و رنگدانه پرودی جیوسین از آب های برنج از غرب مازندران

راحله سلطانمرادی[1*]، علی ناظمی[2]، سید رضا حسینی دوست[3]، علی اصغر خداپرست[4]، مومنه دلبیشه[5]

۱-کارشناسی ارشد، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، گروه میکروبیولوژی

۲-استادیار، تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه میکروبیولوژی

۳۱-ستاد تمام، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، گروه میکروبیولوژی

۴-کارشناسی ارشد، تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

۵- کارشناسی ارشد، تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، گروه میکروبیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: سراشیوپپتیداز یک آنزیم پروتئولیتیک است که توسط *Serratia Sp* تولید می شود و به عنوان یک داروی ضدالت هابی و مسکن قوی در درمان بیماری های الت هابی مزمن استفاده می شود. رنگدانه پرودی جیوسین حاصل از سراشیامارسیسنس نیز در تهیه و تولید محصولات دارویی به وفور مورد استفاده قرار می گیرد. هدف از این مطالعه جداسازی و شناسایی سویه جدید از *Serratia marcescens* با قابلیت تولید آنزیم سراشیوپپتیداز و رنگدانه پرودی جیوسین از آب های برنج غرب مازندران بوده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه ۵۰ نمونه آب برنج از شالیزار های مختلف غرب مازندران تحت شرایط استاندارد نمونه گیری شد و تعداد ۴۰ باکتری جدا شد و از این تعداد ۱۰ باکتری واجد فعالیت پروتئازی و رنگدانه پرودی جیوسین بودند که با استفاده از تست های بیوشیمیایی جداسازی شدند. سپس گونه باکتریایی از طریق ۱۶SrRNA شناسایی گردید. وزن ملکولی تقریبی آنزیم بوسیله رسوبدهی پروتئین و SDS-PAGE تعیین گردید. سپس توان تولید رنگدانه پرودی جیوسین بر روی محیط های کشت Nutrient broth، MacConkey broth ، Luria Bertani broth وSkim milk broth در دما های ۲۵، ۲۸ و ۳۷ درجه سانتی گراد با روش اسپکتروفتومتری ماورای بنفش در طول موج ۵۳۵ نانومتر بررسی شد.

یافته ها: تن ها یک ایزوله شناسایی شد. وزن ملکولی این ایزوله تقریبا kda ۵۲ تعیین گردید، بهترین محیط کشت برای بیشترین میزان تولید این رنگدانه، محیط کشتSkim milk broth و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد بود. باکتری مورد نظر حتی در دمای ۳۷ درجه نیز قادر به تولید رنگدانه بود.

بحث: وزن ملکولی آنزیم سراشیوپپتیداز، kda ۵۲ بوده که این نتایج منطبق با مشاهدات Mohankumar و همکارانش در سال ۲۰۱۱ بوده است و همچنین تولید رنگدانه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کاملا متوقف شده بود و این نتیجه با یافته های Pryce و Terry در سال ۲۰۰۰ مطابقت داشت.

نتیجه گیری: با توجه به اهمیت کاربردی آنزیم سراشیوپپتیداز و رنگدانه پرودی جیوسین، بهینه سازی شرایط تولید آن ها در حد بالاتر پیشن هاد می شود.

کلمات کلیدی: سراشیا مارسیسنس،۱۶SrRNA ، آنزیم سراشی‌وپپتیداز، رنگدانه پرودی جیوسین، اسپکتروفتومتری

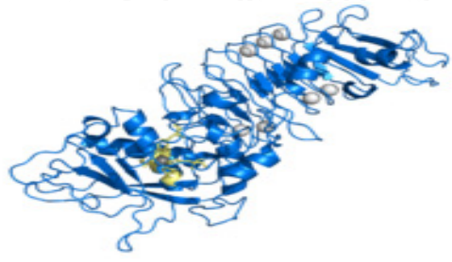
آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، گروه میکروبیولوژی
پست الکترونیکی : msoltanmoradi29@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله:۹۲/۸/۱۵
تاریخ پذیرش : ۹۳/۴/۲۳

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

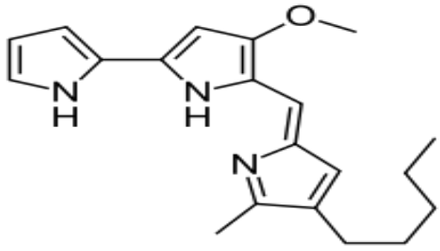
مقدمه

آنزیم های پروتئولیتیکی که امروزه استفاده می شوند، معمولا از باکتری ها (سراپپتاز[۱] تولید شده در محیط کشت سراشیا مارسیسنس)، گیا هان (بروملائین[۲] از ساقه آناناس و پاپائین[۳] از انبه) و نیز منابع حیوانی به دست می آیند (مانند تریپسین و کیموتریپسین از خوک و احشام). همه آن ها به طور کلی مفید هستند، اما به نظر می رسد که برای بسیاری از کاربرد ها سراپپتاز مناسب تر می باشد. این آنزیم بیشتر از سایر آنزیم ها در انجام دوباره فیبرینولیز در این نمونه موثر بوده است، این نتیجه و یافته های دیگری که بیانگر فواید کلینیکی این آنزیم ها به عنوان یک عامل ضد الت هابی بوده اند را تایید می کند (۴،۱۰).

سراشیوپپتیداز (Serratio peptidase) نوعی آنزیم پروتئولیتیک است (تصویر ۱) که بیشتر از یک دهه است که برای کاربرد کلینیکی در دسترس می باشد. این آنزیم برادی کینین، هیستامین و سروتونین مسئول ادماتیک را هیدرولیز می کند. این آنزیم میزان تورم را کاهش داده و چرخه میکروبی موجود در بزاق و خلط را بهبود می بخشد (۷). مشخصه دیگر این باکتری تولید رنگدانه قرمز غیر محلول در آب بنام پرودی جیوسین(Prodigiosin) است (۱۷). پرودی جیوسین یک تری پیرول بوده (تصویر ۲) و اولین بار در سراشیامارسیسنس شناسایی گردید که کلنی های قرمز صندوقی شکل زیبایی را ایجاد می نماید. تولید رنگدانه تن ها در درصد کمی از ایزوله ها دیده می شود. مطالعات اخیر خواص ضد قارچی و ضد سرطانی این رنگدانه و اهمیت آن را در صنایع داروسازی نشان داده است (۱۱،۸). همچنین به عنوان یک عامل کنترل بیولوژیکی در مقابل جلبک های مضر در محیط های دریایی طبیعی، موثر در نظر گرفته شده، بنابراین پرودی جیوسین باید در مقادیر بالایی تولید شود تا نیاز های آتی را برآورده کند(۱۵). این مطالعه با هدف جداسازی سویه های سراشیا مارسیسنس از منابع طبیعی غرب مازندران و ارزیابی قابلیت تولید آنزیم سرایشوپپتیداز و رنگدانه پرودی جیوسین انجام شده است.



تصویر ۱- ساختار کریستال Serratiopeptidase



تصویر ۲- ساختار تری پیرولی پرودی جیوسین

مواد و روش ها:

جداسازی و غربالگری جنس سراشیا ازآب

۱ میلی لیتر از آب شالیزار های برنج مختلف از غرب مازندران گردآوری گردید و پس از تهیه رقت، رقت های 10^{-7}– 10^{-2} در محیط skim milk agar به صورت سفره ای کشت داده شد و پلیت ها در دمای محیط به مدت ۹۶ ساعت گرماگذاری شدند.

شناسایی میکروسکوپی

پس از گذشت ۹۶-۲۴ ساعت از کلنی های قرمز رنگ رشد یافته بر محیط Skim milk agar لام تهیه و رنگ آمیزی گرم انجام شد سپس کوکوباسیل های گرم منفی جدا گردید.

جداسازی باسیلوس های تولید کننده پروتئاز

به منظور شناسایی ایزوله های *Serratia* تولید کننده پروتئاز از محیط Skim milk agar استفاده شد و ایجاد هاله شفاف اطراف کلنی ها در سطح پلیت نشان دهنده فعالیت پروتئازی است.

شناسایی باکتری از طریق توالی پرایمر اختصاصی

DNA ژنومی سراشیامارسیسنس بر پایه ژن ۱۶SrRNA استخراج شد و میزان خلوص آن با توجه به مقدار A۲۶۰/A۲۸۰ به دست آمد. پرایمر اختصاصی برای انجامPCR, ۱۶SrRNA که دارای توالی Smar۱۶SV ۸۹–۱۰۸ GGGAGCTTGCTCACTGGGTG و GC-Smar۱۶SWR GAGTAACGTCAGTTGATGAGCGTATTA ۴۷۱–۴۹۹ بودند استفاده شد (۱). سپس به منظور تعیین توالی محصول PCR به شرکت سینا ژن ارسال گردید و نتیجه تعیین توالی با استفاده از برنامه Blastدر سایت NCBI ردیف سازی گردید.

بهینه سازی تولید آنزیم سرایشوپپتیداز با بررسی عوامل فوق صورت گرفت:

اثر دما

۱ Serrapeptase .
۲ Bromelain .
۳ Papaya .

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

به منظور بررسی اثر دما بر تولید آنزیم سراشیوپپتیداز، باکتری ایزوله شده در محیط Skim milk agar در دما های ۴۰، ۳۷، ۲۸ و ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۹۶ ساعت انکوبه شدند و قطر هاله در هر دمااندازه گیری شد.

اثر مدت زمان انکوباسیون

به منظور بررسی اثر مدت زمان کشت بر روی تولید آنزیم سراشیوپپتیداز باکتری ایزوله شده با بیشترین قطر هاله، در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد، در زمان های ۹۶-۲۴ ساعت انکوبه شدند و قطر هاله های ایجاد شده اندازه گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم

سنجش فعالیت پروتئازی توسط ماناچینی (Manachini) با اصلاح روش هضم کازئین انجام گرفت (۳). ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تازه به ۳ میلی لیتر محیط Luria Bertani مایع تلقیح گردید و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار قرار داده شد. سوسپانسیون میکروبی به مدت ۱۰ دقیقه در دور rpm ۱۴۰۰۰ سانتریفوژ و مایع رویی حاوی آنزیم جداسازی گردید. به منظور تهیه سوبسترا ابتدا محلولSkim milk (۱٪) با سیترات فسفات بافر ۰/۰۰۵ مولار با pH ۷/۵ مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب داغ قرار داده شد. در ادامه ۱ میلی لیتر از سوبسترای مذکور با ۱ میلی لیتر سوپرناتانت حاوی آنزیم مخلوط و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. واکنش با اضافه نمودن ۳ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ (TCA) با دمای ۲ درجه سانتی گراد، متوقف شد. به منظور رسوب پروتئین های هضم نشده، لوله ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۲ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق با دورrpm ۱۴۰۰ سانتریفوژ گردیدند. در ن هایت جذب سوپرناتانت شفاف در طول موج ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه-Biochrom UV/ visible spectro photometer خوانده شد. فعالیت آنزیمی پروتئاز برابر است با مقدار آنزیمی که بتواند یک میکروگرم فرآورده تیروزین را در هر میلی لیتر، از سوبسترای کازئین در مدت یک دقیقه تولید نماید. این فعالیت به صورت واحد آنزیمی در میلی لیتر (U/ml) گزارش می گردد.

تولید و خالص سازی نسبی پروتئین ها

جدایه ای که بیشترین فعالیت آنزیمی را داشت در ۳ میلی لیتر از محیط لوریابرتانی براث به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور شیکردار کشت داده شد. برای تهیه نمونه کنترل منفی همچنین باکتری مورد نظر در محیط M۹ (Glu-, $CaCl_2$, $MgSO_4$ cose, Na_2HPO_4 ,$7H_2O$,KH_2PO_4 ,NaCl NH_4Cl) نیز کشت داده شد و تمامی مراحل بطور مشابه روی سوپرناتانت آن نیز اجرا گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت و ترشح آنزیم سراشیوپپتیداز(محیط کاملا هیدرولیز شده)، سوسپانسیون میکروبی در ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و سوپرناتانت حاوی آنزیم جدا گردید.

۵۰۰ مایکرولیتر از سوپ رویی به وسیله استون سرد ۱۰۰٪ تا حجم ۸۰٪ سوسپانسیون رسوب دهی شد رسوبدهی با استون به صورت قطره قطره و همراه با شیک ملایم انجام گرفت و محلول اشباع حاصل در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت در یخچال قرار داده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال دار با درجه حرارت ۴ درجه سانتی گراد با دورrpm ۱۵۰۰۰ سانتریفوژ صورت گرفت. به رسوب حاصله ۵۰ مایکرولیتر Tris- Hcl ۰.۰۱ مولار با pH ۸ اضافه و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تعیین وزن ملکولی با استفاده از تجزیه و تحلیل SDS-PAGE

آنزیم سراشیوپپتیداز خالص به وسیله سدیم دودوسیل سولفات- ژل پلی آکریل آماید طبق روش RonnleMachielsen (۱۴) که ژل جداکننده دارای pH ۸.۸ و ژل متراکم کننده با pH ۶.۸ بود الکتروفورز شد. به منظور دناتوره کردن پروتئین، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش (۱۰۰ درجه سانتیگراد) قرار داده شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی و ۱۵ میکرولیتر مارکر وزن ملکولی پروتئین روی ژل پلی آکریل آمید ۱۵٪ بارگیری گردید و عمل الکتروفورز با آمپراژ ثابت ۱۵ میلی آمپر و ولتاژ اولیه ۸۰ ولت صورت گرفت (جدول ۱)

جدول ۱- مواد مورد نیاز برای تهیه ژل SDS ۱۵٪

	٪۱۰ Resolving		٪۵ Stacking	
آب دیونیزه	ml	۱۱/۹	ml	۶/۸
آکریل آمید ۳۰٪	ml	۱۰	ml	۱/۷
تریس ۱،۵مولار با pH ۸-۷،۵ تریس ۱مولار با pH ۷	ml	۷/۵	ml	۱/۲۵
آمونیوم پر سولفات ۱۰٪	ml	۰/۳	ml	۰/۱
سدیم دودسیل سولفات ۱۰٪	ml	۰/۳	ml	۰/۱
تمد	ml	۰/۰۱۲	ml	۰/۰۱

تعیین میزان رنگدانه پرودی جیوسین تولید شده در محیط کشت

برای این منظور باکتری مورد نظر در چ هار محیطNutrient broth ،MacConkey broth ،Luria Bertani broth و Skim milk broth

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

تلقیح گردید و نمونه ها در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. سپس میزان تولید رنگدانه با روش اسپکتروفتومتری ماورای بنفش در طول موج ۵۳۵ نانومتر ارزیابی شد.

بهینه سازی تولید رنگدانه پرودی جیوسین

الف)تاثیر دما

برای این منظور باکتری مورد نظر به محیط های کشت Nutrient broth ، MacConkey broth ، Luria Bertani broth و Skim milk broth تلقیح گردید و نمونه ها در دما های ۲۵، ۲۸ و ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند. سپس میزان تولید رنگدانه با روش اسپکتروفتومتری ماورای بنفش در طول موج ۵۳۵ نانومتر سنجیده شد.

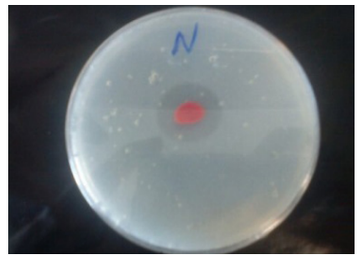
ب) تاثیر pH

برای این منظور محیط کشت های یاد شده با میزان pH ۵، ۶، ۷ و ۸ تهیه گردید و پس از انجام کشت میزان تولید رنگدانه ارزیابی گردید.

یافته ها:

جداسازی و غربالگری

از میان ۵۰ نمونه آبی شالیزار های برنج مورد آزمایش، ۴۰ کلنی صورتی رنگ به دست آمد که پس از غربال سازی بر روی محیط Skim milk agar، ۱۰ کلنی واجد فعالیت پروتئولیتیکی بودند (شکل ۳).



شکل ۳- هاله پروتئازی نمونه N در محیط skim milk agar

خصوصیات مورفولوژی و بیوشیمیایی

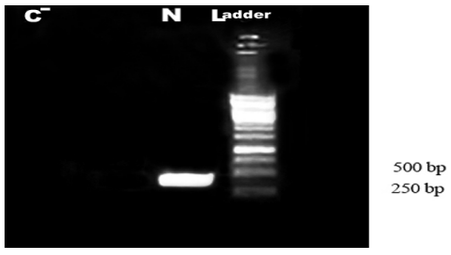
بررسی مورفولوژیکی و میکروسکوپی نشان داد که باکتری مولد پروتئاز واجد کلنی های سفید – صورتی یا قرمز رنگ و موکوئیدی بود. رنگ آمیزی گرم نیز نشان دهنده وجود باسیل های کوتاه گرم منفی بود که در خانواده بزرگ انتروباکتریاسه ها قرار می گرفت. نتایج تست های بیوشیمیایی در جدول ۲ نشان داده شده اند.

جدول ۲- نتایج تست های بیوشیمیایی

شماره نمونه	هیدرولیز کازئین	کاتالاز	اکسیداز	سیترات	اندول	اوره آز
N	+	+	–	+	–	–

شناسایی میکروارگانیسم از طریق توالی پرایمر اختصاصی

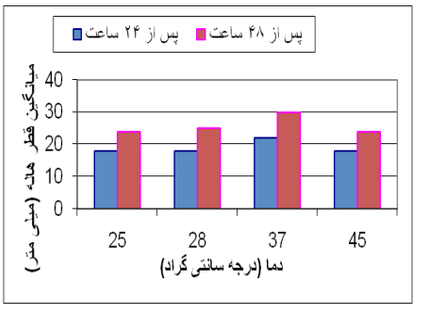
از آنجایی که برای شناسایی سراشیامارسیسنس از پرایمر اختصاصی گونه استفاده شد وجود باند در محدوده bp۴۱۷ نشان دهنده ی آن بود که نمونه مورد نظر سراشیامارسیسنس است (تصویر ۴). سکانس به دست آمده از نظر همولوژی با سایر ژن های مشابه بررسی شد و در سامانه NCBI با نام TWASR ۱۱۱۸ به ثبت رسید.



تصویر ۴- تکثیر بخشی از ژن ۱۶SrRNA با پرایمر اختصاصی سراشیامارسیسنس C⁻ کنترل منفی N باند نمونه باند Ladder ۱kb

نتایج بهینه سازی حرارتی

نتایج بهینه سازی حرارتی و مدت زمان زمان انکوباسیون روی این گونه نشان داد قطر هاله ها با گذشت زمان افزایش پیدا کرد اما بیشترین فعالیت پروتئولیتیکی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بعد از گذشت ۴۸ ساعت اندازه گیری شد (نمودار ۱).



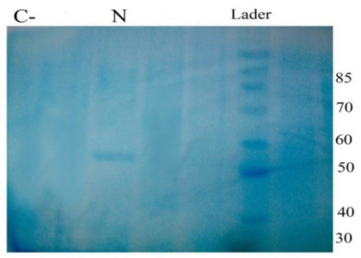
نمودار ۱- نتیجه بهینه سازی حرارتی بعد از ۴۸-۲۴ ساعت

وزن ملکولی آنزیم سراشیوپپتیداز

برای ارزیابی وزن مولکولی آنزیم به بررسی نمونه پرداخته شد. بدین صورت که آنزیم استخراج شده از این نمونه به همراه کنترل منفی آن نمونه و Ladder SMO۴۳۱، روی ژل ۱۵٪ ران شدند و پس از اتمام

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

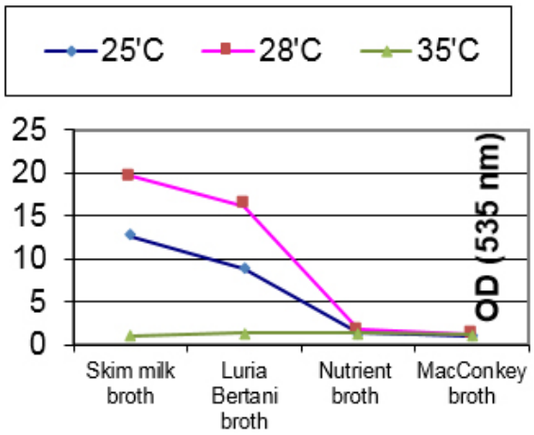
این مرحله و رنگ آمیزی و رنگبری ژل، باند پروتئینی ظاهر شد. با مقایسه این نوار با Ladder پروتئینی، وزن تقریبی پروتئین در محدوده ۵۲ kda تعیین گردید (شکل ۵).



شکل ۵- باند پروتئینی در ژل SDS-PAGE. ستون ۱) کنترل منفی، ستون ۳) باند نمونه N در محیط Luria Bertani broth، ستون ۶) سایز Ladder SMO۴۳۱

نتایج بهینه سازی تولید رنگدانه پرودی جیوسین

نتایج نشان داد که بهترین دما برای رشد و تولید رنگدانه پرودی جیوسین توسط جنس *Serratia marcescens* دمای ۲۸ درجه سانتیگراد می باشد. باکتری مورد نظر حتی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قادر به تولید رنگدانه بود اما این میزان بسیار ناچیز بود. بیشترین میزان تولید رنگدانه در محیط Skim milk Agar در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد ارزیابی گردید (نمودار ۲). بهترین pH، برای تولید رنگدانه، حدود ۸ گزارش شد.



نمودار ۲- اثر نوع محیط کشت و دما های مختلف در تولید پرودی جیوسین

بحث

سراشیوپپتیداز یا سراپپتاز یک آنزیم پروتئولتیک تولید شده توسط سراشیامارسیسنس است که از طریق فرایند های تخمیر هوازی به وجود می آید و از انتروباکتریاسه غیر پاتوژن، *Serratia E*۱۵ موجود در کرم ابریشم جداسازی شده است. این آنزیم با موفقیت به مدت تقریبا ۴۰ سال است که در ژاپن و اروپا برای درمان درد و الت هابات ناشی از آرتریت، تروما، جراحی، سینوزیت، برونشیت، درد های استخوانی و تورم های دردناک پستان استفاده می شود (۲). ویژگی دیگر این باکتری تولید رنگدانه قرمز متصل به سلول بنام پرودی جیوسین می باشد که یک متابولیت ثانویه در این باکتری محسوب می شود. بررسی های Parachuri و همکارانش در سال ۱۹۸۷ نشان داد که تولید رنگدانه تن ها در درصد محدودی از ایزوله ها دیده می شود. میزان تولید رنگدانه در سویه های مولد، بسیار متفاوت بوده و به عواملی نظیر نوع سویه، زمان گرماگذاری، نوع محیط کشت و دما بستگی دارد (۱۲).

اطلاعات به دست آمده به وضوح نشان می دهد که باکتری سراشیامارسیسنس آنزیم سراشیوپپتیداز را تولید می کند. شرایط بهینه برای تولید آنزیم سراشیوپپتیداز در طی فرایند تخمیر تعیین شده است.

این مطالعه نشان داده که دوره انکوباسیون اپتیمم برای تولید آنزیم سراشیوپپتیداز، ۲۴ ساعت است.

بسیاری از محققان ارتباط بین دما و تولید آنزیم را بررسی کرده اند. محدوده دمایی ۲-۷۰ درجه سانتیگراد یا بیشتر از آن به نوع ارگانیسم، شرایط محیط و نوع آنزیم بستگی دارد (۱۰).

از کربوهیدرات های خاص در محیط کشت سراشیامارسیسنس به عنوان منبع کربن برای تولید آنزیم سراشیوپپتیداز استفاده شده است. نتایج موجود نشان داد که گلوکز بهترین منبع کربن در تولید این آنزیم توسط باکتری فوق می باشد و موجب حداکثر میزان تولید آنزیم می شود.

رنگدانه های تولید شده توسط باکتری ها کارایی زیادی به عنوان فرآورده های مهم دارویی دارند. به منظور افزایش توانایی باکتری در سنتز مقادیر زیادی رنگدانه، محیط های مختلف، نقش دما، رشد میکروارگانیسم در محیط های مختلف و تولید رنگدانه مورد مطالعه قرار گرفته است. یک محیط می تواند رشد باکتری را حمایت و تقویت کرده و در زمان های مشابه موجب افزایش سطح تولید رنگدانه شود. محیط Skim milk agar بالاترین میزان تولید رنگدانه پرودی جیوسین را نسبت به سایر محیط های ارائه شده در این مقاله نشان داده که معادل ۱۲/۷ mg بوده است. در طی بررسی بیوراکتور با یک جاذب درونی پرودی جیوسین که توسط Jungdon و همکارانش (۶) در سال ۲۰۰۱ انجام گرفت، مشخص شد که میزان تولید ن هایی این محصول ۱۳ mg/ml بوده و محیط مورد استفاده دارای دکستروز و کازئین بوده است. Chang و همکارانش(۵) به این نتیجه رسیدند که در محیط

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

دارای اتانول و منبع کربن میزان تولید mg/ml ۳ بوده است. در این مطالعه در محیط Nutrient Agar و MacConkey Agar تولید رنگدانه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کاملا متوقف شده بود و این نتیجه با یافته های Pryce و Terry در سال ۲۰۰۰ مطابقت داشت (۱۳). تاثیر نقش فیزیولوژیکی دما در توقف تولید رنگدانه تا حد زیادی به نوع محیط کشت و ترکیبات موجود در آن بستگی دارد.

وزن ملکولی آنزیم سراشیوپپتیداز، kda ۵۲ بوده که وزن استاندارد سراشی‌وپپتیداز در SDS-PAGE تلقی می شود. نتایج نشان دهنده تایید تولید آنزیم سراشیوپپتیداز بوده و با تعیین وزن ملکولی آن، سایر ویژگی های این آنزیم نیز تعیین شده است. این نتایج منطبق با مشاهدات Mohankumar و همکارانش در سال ۲۰۱۱ (۹) و Wan, Mao-Hua و همکارانش در سال ۲۰۱۰ (۱۶) است که وزن ملکولی آنزیم سراشیوپپتیداز در باکتری سراشیا مارسیسنس حدودkda ۵۲ تخمین زده شد.

نتیجه گیری

با توجه به اهمیت آنزیم ها و بیوملکول ها در دهه اخیر و استفاده آن ها در بیوتکنولوژی و صنایع دارویی، تولید رنگدانه های زیستی توسط باکتری ها از جمله پژوهش های نوینی است که کاربرد آن ها مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. بررسی خواص ضد ضد سرطانی این رنگدانه و آنزیم سراشیوپپتیداز و کاربرد این رنگدانه در تولید آنتی بیوتیک و صنایع نساجی نیازمند تحقیقات بیشتری است.

سپاسگزاری

از استاد ارجمند جناب آقای دکتر علی ناظمی که با حمایت های علمی شان در موفقیت اینجانب نقش چشمگیری داشته اند و همچنین دست اندرکاران مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن که یاری گر این تحقیق بوده اند، قدردانی و تشکر می گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

منابع:

1- Anuradha V. G, Nandini A, Geetha M, Gautam P. A novel medium for the enhanced cell growth and production of prodigiosin from Serratiamarcescens isolated from soil. BMC Microbiology, 2004; 4(11): 1-10.

2- Bhagat Sh, Aqarwal M, Roy V. Serratiopeptidase: A systematic review of the existing evidence. International Journal of Surgery, 2013; 11(3): 209-217.

3- Blakebrough N, Moresi M. Scale-up of whey fermentation in a pilot-scale fermenter. Eur J Appl Microbiol Biotechnol, 1981; 12: 173-178.

4- Braun P, Sutherland JP. Predictive modeling of growth and enzyme production and activity by a cocktail of Pseudomonas spp Shewanella putrefaciens and Acinetobacter sp. International journal of food microbiology, 2003; 86(3):271-82.

5- Chang S, Sanada M, Johdo O, Ohta S, Nagamatsu Y, Yoshimoto A. High production of prodigiosin by *Serratia marcescens* grown on ethanol. Biotechnol Lett, 2000; 22:1761-1765.

6- Jungdon B, [etal]. A novel bioreactor with an internal adsorbent for intergrated fermentation and recovery of prodigiosin like pigment produced from *Serratia sp*, Biotechnol Letts, 2001; 23:1315-1319.

7- Malke H, Ferretti J.J. Streptokinase: cloning, expression, and excretion by Escherichia coli'' Proc. Natl. Proc Natl Acad Sci USA, 1984; 81(11)::3557-3561.

8- Mandarville RA. Synthesis, Proton- affinity and Anti-cancer properties of the Prodigiosin group of natural products. Current Medicinal Chemistry, 2001; 1(2):195-218.

9- Michaelis S, Chapon C, D'Enfert C, Pugsley AP, Schwartz M. Characterization and expression of the structural gene for pullulanase, a maltose-inducible secreted protein of Klebsiella pneumonia. J Bacteriol, 1985; 164(2): 633-638.

10- Mohankumar A, Raj H.K. Production and Characterization of Serratiopeptidase Enzyme from *Serratia Marcescens*, International Journal of Biology, 2011; 3(3): 39-51.

11- Nobutaka S, Masami N, Kazuyuki H, Tadaaki H, Katsumi A. Synergistic antifungal activity of chitinolytic enzymes and prodigiosin produced by biocontrol bacterium, Serratia marcescens strain B2 against gray mold pathogen. Botrytis cinerea. J Gen Plant Pathol, 2001; 67(4):312-319.

12- Parachuri DK, Harshey RM. Flagellar variation in Serratia marcescens is associated with color variation. Journal of Bacteriology, 1987; 169(1): 61-65.

13- Pryce LH , Terry FW. Spectrophotometric assay of gene expression: *Serratia marcescens* Pigmentation. Bioscene, 2000; 26(4):3-13.

14- RonnleMachielsen R, Augustinus RU, Serve WM ,Kengen V. Production and Characterization of a themostable Alcohol dehydrogenase. That Belongs to the Aldo-ketoReductase SuperFamily. App and Environ Microbiol, 2006; 72(1):233-8.

15- Tang XY, Wu B. Ying HJ, He BF. Biochemical properties and potential applications of a solvent-stable protease from the high-yield protease producer Pseudomonas aeruginosa PT121, Appl.Biochem. Biotechnol, 2002; 160: 1017-1031.

16- Wan MH, Bin W, Wei R, Bing-Fang H. Screening, Characterization and Cloning of a Solvent-Tolerant Protease from Serratiamarcescens MH6. Journal of microbiology and biotechnology, 2010; 20(5): 881–888.

17- WK SI. A novel bioreactor with an internal adsorbent for intergrated fermentation and recovery of prodigiosin like pigment produced from Serratia sp .Biotechnol Letts, 2001; 23:1315-1319.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-13]