التحسين الوراثي و التوصيف الجزيئي لعزلة بكتيرية منتجة لإنزيم اليوريكيز

صفا قطب عبدالله الفتني

أ.د. سناء السيد ترك

د. ماجدة محمد علي

المستخلص

يورات اوكسيديز (يوريكيزEC 1.7.3.3 أوuricase) هو إنزيم مكون من أربعه أجزاء، ذو وزن جزيئي يساوى135كيلو دالتون وله فائدة علاجية لما له من دور في تحليل حمض اليوريك (المنتج النهائي لهدم البيورين إلى آلانتوين، الذي هو أكثر ذوبانافي الماء والذي يفرز بسهولة من المادة البادئة). تستطيع العديد من الكائنات الحية بما في ذلك النباتات الراقية والكائنات الدقيقة إنتاج إنزيم اليوريكيز. هذا الإنزيم موجود على نطاق واسع في معظم الفقاريات ولكنه غير موجود في البشر. في هذا البحث تم عزل وتنقية 25 عزلة بكتيرية من مصادر مختلفة تشمل التربة الزراعية والتربة الملوثة بفضلات بعض الدواجن إضافة إلى عينات من المياه من مناطق مختلفة من مدينة جدة في المملكة العربية السعودية على بيئة تحتوي على حمض اليوريك. وجدنا منهم 5 عزلات كانت الاقوى على الإطلاق إحصائيا في تحليل مادة حمض اليوريك وإفراز إنزيم (uricase) حيث تراوح افرازها ما بين (0.51- 0.80 unit/ml). هذه النسبة قابلة للزيادة عن طريق الظروف المزرعية وتم اختيار أحسن الأنواع إنتاجاً للمادة المختبرة من العزلة (SK3). وتم تعريف العزلة البكتيرية باستخدام الصفات المورفولوجية والفسيولوجية والبيوكميائية بالإضافة إلى الطرق الجينية المختلفة على أنها تنتمي إلى جنس *Bacillus* وأطلق عليها اسم *B. cereus*. بعد دراسة تأثير الظروف المختلفة على نمو البكتريا المختارة وافراز أنزيم (uricase) وجدنا أن أحسن بيئة هي وسط تربتون الجلوكوز عند درجه حموضة للوسط 8.0 ودرجة حرارة30 مْ. بعد تنمية البكتريا على أوساط كربونية ونيتروجينية مختلفة لاختيار أحسن الأوساط التي تدعم افراز انزيم (uricase) كانت المصادر المختبرة الجلوكوز، النشا، اللاكتوز ، خلات الصوديوم وحمض الستريك كمصادر كربونية وأيضاً كبريتات الأمونيوم ، الببتون، كلوريد الأمونيوم، نيرات الصوديوم ومستخلص اللحم كمصادر نيتروجينية. كان الجلوكوز أحسن مصدر كربوني والببتون أحسن مصدر نيتروجين. عملنا علي زيادة وتحسين إنتاجية إنزيم اليوريكيز باستخدام إحدى طرق الهندسة الوراثية، مثل إحداث الطفرات مما أدى إلى إنتاج سلالة بكتيرية قادرة على إفراز إنزيم اليوريكيز بكمية أكثر ب 6 مرات تقريبا من السلالة الأصل.

Genetic improvement and Molecular characterization of bacterial isolate producing uricase enzyme

Safa Qutub Al- Fattani

Dr. Sanaa Tork

Prof. Magda Mohammad Aly

Abstract

Urate oxidase (EC 1.7.3.3) or uricase is a tetrameric enzyme of therapeutic interest implicated in the catalyzed degradation of uric acid, (a final product of purine catabolism, to allantoin, which is more soluble and more easily to be excreted than the starting compound). Twenty five isolates of microorganisms were screened for uricase production with medium containing uric acid as the only carbon source. All isolates were obtained from samples of soil and water, collected from different places of Jeddah, Saudi Arabia. The degradation of uric acid in bacterial isolates with different taxonomical properties was investigated. The amount of uricase was determined by spectrophotometry. Five isolates out of 25 (20%) of the tested isolates produced uricase. The highest uricase producer was the isolate (SK3) thus; it was selected for more detail studies. Based on its morphological, biochemical and physiological characteristics, as well as 16srDNA sequence and phylogenetic analysis, this isolate was identified as *Bacillus cereus*SK3. The effects of different factors on the enzyme production were studied. It was showed that glucose/tryptone broth medium was the most favorable one, the optimum temperature was at 30°C, and incubation period required for maximum production was 3 day with aeration level at 150 rpm and pH 8.0. Different carbon sources and nitrogen sources were used for bacterial growth and uricase production. Glucose proved to be the best carbon source, peptone was found to be the best nitrogen source. Moreover, uricase production was enhanced using mutation. The obtained mutant grows well and produces higher uricase, 6times more compared to the original isolate.