التوصيف الجزيئي وتحسين إنتاج إنزيم اللجنين بيروكسيديز لبعض عزلات البكتريا

إعداد

الطالبة ريم سالم محمد باطيب

تحت إشراف

أ.د. ندى حسن القرشي

المستخلص

اللجنين هو البوليمر الأكثر تعقيدا من الناحية التركيبية ويتكون من وحدات فينيل بروبان مع مجموعة متنوعة من الروابط الحيوية. من المعتقد أنه يشكل نسبة ٣٠-٣٥٪ من الكربون العضوي على الأرض. ويعد تحليل اللجنين أمر بالغ الأهمية لإعادة تدوير الكربون. و بالإضافة إلى ذلك ، انه ينتج ما يقرب من (٥-٣٦× ١٠^٨طن) من اللجنين سنويا ، ولا يمكن تحليل معظمها بكفاءة. طرق المعالجة الكيميائية للتخلص من النفايات الصناعية والطبيعية ليست باهظة التكلفة فحسب ، بل انها ضارة أيضا بالبيئة. لذلك من المهم جدا إيجاد طريقة آمنة للتخلص من اللجنين. كالإنزيمات المحللة للجنين والتي تفرز من الكائنات الحية الدقيقة تساهم بشكل كبير في التخلص من المخلفات الصناعية . وتعتبر كلا من الفطريات والبكتيريا من اهم المصادر لإنتاج الأنزيمات المحللة للمخلفات مثل: بيروكسيديز اللجنين ، اللاكاز ، بيروكسيداز المنغنيز ، إلخ. وهناك القليل من الأبحاث المهتمة بدراسة دور الكائنات الحية الدقيقة في تحلل اللجنين. حيث يمثل تحلل اللجنين والتخلص منه بواسطة الكائنات الحية الدقيقة بطرق صديقة للبيئة من اهم التحديات للباحثين على مستوى العالم. لذلك ، يعد عزل الأنزيمات المحللة للجنين طبيعيا مهم جدًا لحماية البيئة وصحة الإنسان. وتم التعرف على العديد من البكتيريا التي تنتمي إلى جنس (Streptomycesالفطريات الشعاعية) والبكتيريا الخيطية على أنها محللة للجنين . حددنا تسع عزلات من البكتيريا المحللة للجنين و التي تفرز انزيم البيروكسيديز. وتم تحديد العزلات الأكثر كفاءة لإنتاج (LiP) وكانت أكثر العزلات نشاطاً للإنتاج هي الأكتينوميسيتات R-St-1 والباسيللس R-B-1 ، والتي تم تعريفها باستخدام (16S-rRNA) كأعلى انتاج للبيروكسيداز(LiP) حيث كان إنتاج السلالة R-St-1(3.8 U / ml) *Streptomyces* بينما كان انتاج Bacilli R-B- . (2.4 U / ml) 1 بعد الوصول للظروف المثلى للسلالتين لوحظ وجود ارتفاع جيد لإنتاج الإنزيم كالتالي : (4.9 U / ml) و(4.5 U / ml) للسلالتين على التوالي R-St-1 و R-B-1 . تم حفظ تسلسل الحمض النووي البكتيري في GenBank تحت رقمين مُدخلين (R-St-1 *Streptomyces lavendulae*) (OL697233.1) و (R-B-1 *Priestia aryabhattai*) (OL697234.1). بعد ذلك اجري تطفير للسلالتين بإستخدام (EMS ,UV) .

الكلمات المفتاحية: لجنين بيروكسيديز,تفاعل البلمرة المتسلسل العشوائي,تحليل الارتباط التشعبي,بريستا,استربتوميسيس

Molecular Identification and Improvement of Lignin Peroxidase Production from Some Bacterial Isolates

By

Reem Salim M. Batayyib

Supervised by

Prof. Dr. Nada Hassan Alqurashi

Abstract

Lignin is the most structurally complex polymer of phenylpropane units and has various biologically stable linkages. Lignin is thought to account for 30-35% of the earth's organic carbon. Lignin degradation is essential for carbon recycling. Moreover, about (5–36 × 108 tons) of lignin are made annually, and most of it cannot be efficiently degraded. Chemical approaches to the treatment of industrial and natural waste are not only expensive but also toxic to the environment. Therefore, it is important to find a safer lignin degradation pathway. Enzymes from microorganisms that degrade lignin contribute significantly to the degradation of industrial effluents. Fungi and bacteria are great sources of effluent-degrading enzymes such as lignin peroxidase, laccase, manganese peroxidase, etc. However, there has been very little researchs into the role of microbes in lignin degradation. Lignin hydrolysis by various microbes in an environmentally friendly manner is a challenge for researchers worldwide. Therefore, isolating lignin-oxidizing enzymes naturally is very important to preserve the environment and human health. Several species of bacteria and filamentous bacteria belonging to the genus Streptomyces (Actinomycetes) have been identified as degraders of lignin. We discovered nine ligninolytic bacterial isolates that excrete peroxidase. The most active isolates for LiP production (Actinomycetes and Bacilli designated R-St-1 and R-B-1), the 2 promising isolates were identified using 16S-rRNA as *Streptomyces* R-St-1 (3.8 U/ml) and Bacilli R-B-1 (2.4 U/ml) isolates. The maximum productivity were 4.9 and 4.5 $U.mL^{-1}$ for strains R-St-1 and R-B-1 respectively, and LiP production increased greatly after optimization. The bacterial DNA sequences were conserved in GenBank under 2 accession numbers (OL697233.1) (*Streptomyces lavendulae* R-St-1) and *(Priestia aryabhatta)* R-B-1 (OL697234.1). Results indicated that after mutagens were used for creating super lignin peroxidase-productive .