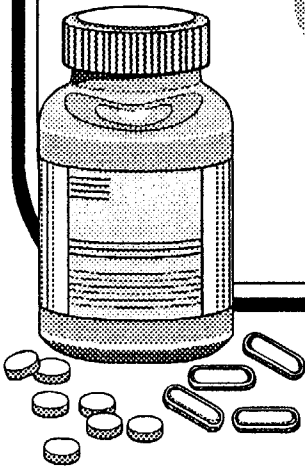




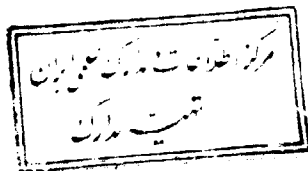
بِنامِ خُداوند

خُردبُخشِ

جان آفرین



۲۴۳۲۲



۱۳۷۸ / ۱ / ۲۰

دانشگاه علوم پزشکی تهران

دانشکده داروسازی

پایان نامه

برای دریافت درجه دکتری

موضوع

استخراج و خالص سازی آنزیم اوره آز
از منابع گیاهی

استاد راهنما

جناب آقای دکتر سید مجتبی طباطبایی یزدی

نگارش

آنا بابابت موشول

سال تحصیلی ۱۳۷۷ - ۱۳۷۶

شماره پایان نامه : ۳۸۷۵

1834/2

۲۴۳۲۲

تقدیم به پدر و مادر عزیزم:

یگانه معلمین صبر و تلاش ، آنان که

وجودشان همواره روشنی بخش زندگی من

و موفقیت امروزم ، نتیجه تلاش و زحمات

بی دریغ ایشان است.

تقدیم به خواهر عزیزم:

او که محبت‌هایش همواره شادبخش لحظات

زندگی من است.

تقدیم به فرزند عزیزم ایلرایی :

غنچه‌ای که عطر دل‌نشین و زیبای زندگی

من است.

با تشکر و سپاس فراوان از:

« جناب آقای دکتر طباطبایی »

استادی که همواره از راهنمایی و ارشادات

ارزنده و بی دریغ ایشان بر خوردار بوده و از

کمالاتشان بهره‌های فراوانی جسته‌ام.

باتشکر از اساتید محترم:

آقای دکتر شاهوردی

آقای دکتر وثوق

آقای دکتر سپهری زاده

آقای دکتر امین

که زحمت قضاوت این پایان نامه را بعهده

داشتند.

با تشکر و سپاس فراوان از:

دوستان و همکاران ارجمندم در آزمایشگاه

بیوتکنولوژی که از همکاری و همفکریهای

آنان بهره‌مند بوده‌ام.

و با تشکر از:

تمامی دوستان و عزیزانی که هر یک بنحوی

مرا در انجام این پایان‌نامه یاری داده‌اند.

و در نهایت تقدیم به همسر صبورم:

او که کمکها و محبتهای بی دریغش همواره
پشتوانه محکم من و وجودش امید آینده من
است.

و چنین تقدیمی در برابر کمکها و زحمات
بی نهایت او تنها نشانه ای از سپاس و قدردانی
من خواهد بود.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

چکیده مطلب

فصل اول: مقدمه

۱	کلیاتی در باره آنزیمها
۱	مقدمه‌ای بر بیوتکنولوژی و تولید آنزیمها
۲	خواص شیمیایی آنزیمها
۳	نامگذاری و طبقه‌بندی آنزیمها
۵	اندازه‌گیری فعالیت آنزیمها
۵	عوامل مؤثر بر سرعت واکنش آنزیمی
۶	نحوه تأثیر pH
۶	نحوه تأثیر حرارت
۷	اثر سوپسترا
۸	محاسبه K_m و V_{max} آنزیم
۱۰	منابع آنزیمی
۱۰	استخراج آنزیم از منابع آنزیمی
۱۲	روشهای خالص سازی آنزیم
۱۲	۱- کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون
۱۳	۲- کروماتوگرافی تبادل یونی
۱۴	۳- کروماتوگرافی میل ترکیبی
۱۵	تعیین محتوای پروتئین آنزیمها
۱۵	تعیین درجه خلوص آنزیم (روش الکتروفورز)

فصل دوم: آنزیم اوره آز

۱۷	تاریخچه اوره آز
۱۷	واکنش اوره آز با اوره
۱۸	منابع مختلف آنزیم اوره آز
۲۰	گیاه سویا
۲۰	مرفولوژی گیاه
۲۲	مواد متشکله
۲۲	خواص درمانی
۲۳	اهمیت بیولوژیکی اوره آز
۲۴	تشابه آنزیم اوره آز از دو منبع JackBean و SoyBean
۲۵	ساختمان اوره آز
۲۶	جایگاه فعال اوره آز
۲۷	ساختمان جایگاه فعال اوزه آز
۲۸	مکانیسم عمل آنزیم
۳۰	پایداری آنزیم اوره آز
۳۱	مهار آنزیم اوره آز
۳۲	سوبسترای آنزیم اوره آز
۳۲	روشهای سنجش آنزیم اوره آز
۳۳	۱- روش ایندوفنل
۳۳	۲- روش نسلر
۳۳	۳- روش Coupled Enzyme

۳۴ pH Indicator روش ۴ -

۳۴ Potentiometric Assays روش سنجش پتانسیومتری ۵ -

۳۵ سایر روشها ۶ -

۳۵ کاربردهای اوره آز

فصل سوم: مواد و روشها

۳۶ منابع گیاهی بررسی شده

۳۷ نحوه استخراج آنزیم از گیاه

۳۷ تعیین فعالیت آنزیم

۳۸ روش تهیه معرفها

۳۸ تعریف واحد آنزیمی

۳۹ منحنی استاندارد آمونیاک

۳۹ روش اندازه گیری پروتئین

۳۹ تهیه معرف برادفورد

۴۰ منحنی استاندارد پروتئین

۴۰ سنجش پروتئین نمونه

۴۴ تغلیظ آنزیم

۴۴ خالص سازی آنزیم

۴۴ ۱ - ژل فیلتراسیون

۴۵ آماده سازی ستون

۴۶ ۲ - کروماتوگرافی تعویض یونی

۴۷ آماده سازی ژل DEAE

۴۸	الکتروفورز
۴۹	طرز تهیه ژل
۵۱	آماده سازی ژل
۵۳	آماده سازی نمونه
۵۳	رنگ آمیزی ژل
۵۴	رنگ آمیزی به روش کوماسی بلو
۵۵	رنگ آمیزی فعالیت روی ژل الکتروفورز
۵۵	بررسی پارامترهای کینتیکی آنزیم
۵۶	۱- تعیین pH و دمای بهینه فعالیت آنزیم
۵۶	۲- بررسی پایداری آنزیم در دماهای مختلف
۵۶	۳- تعیین K_m و V_{max} آنزیم
۵۷	بررسی اثر فلزات بر فعالیت آنزیم

فصل چهارم: نتایج

۵۸	نتایج حاصل از بررسی مقادیر آنزیم اوره آاز از منابع مختلف
۵۹	بررسی نتایج حاصل از تأثیر زمان در استخراج آنزیم
۵۹	بررسی نتایج حاصل از تغلیظ
۶۱	بررسی نتایج حاصل از خالص سازی
۶۲	الکتروفورز
۶۷	بررسی پارامترهای کینتیکی
۶۷	۱- بررسی فعالیت آنزیم در pH های مختلف
۶۷	۲- بررسی اثر مولاریته بافر در فعالیت آنزیم

۶۸ ۳- بررسی فعالیت آنزیم در دماهای مختلف

۶۸ ۴- بررسی پایداری حرارتی آنزیم

۷۷ بررسی K_m و V_{max} آنزیم

۷۷ بررسی تأثیر یونهای فلزی بر فعالیت آنزیم

فصل پنجم: بحث و بررسی نتایج

۸۳ بحث و بررسی نتایج

۸۷ منابع

« چكیده مطلب »