آثار هافمیستری بر فعالیت و پایداری الکل دهیدروژناز محبوس شده در حامل کتیرا

رباب بایبوردی[۱]، رسول شریفی[۲*]

چکیده

استفاده از نمک‌های طبیعی و حبس کردن آنزیم، از راهکارهای افزایش پایداری آنزیم است. مطالعه حاضر به تأثیر افزایش نمک‌ها بر آنزیم الکل دهیدروژناز آزاد و حبس شده در حامل کتیرا، می‌پردازد.

روش بررسی در تحقیق پیش رو، بر این نکته مبتنی است که آنزیم الکل دهیدروژناز مخمر، پس از خریداری در حامل کتیرا محبوس شد و فعالیت آن در حضور غلظت‌های مختلف نمک‌های طبیعی سدیم و کلر (۲-۱ مولار)، ارزیابی و همچنین پایداری آنزیم تثبیت شده در دو دمای بالای ٤٥ و ^{oc}٥٥، در حضور این نمک مطالعه گردید.

پس از فرایند مذکور، نتایج نشان می‌دهد که حبس‌کردن آنزیم، به کاهش تأثیر مهارکنندگی نمک‌ها منجر می‌گردد. همچنین آنزیم حبس شده در مقایسه با آنزیم آزاد، پایداری و فعالیت مطلوبی را نشان می‌دهد (نیمه عمر به ترتیب ۳۷ و ٦۲ دقیقه در ^{oc}٤٥).

افزون بر مطلب مذکور، آنیون‌های کوزموتروپ و حبس‌کردن آنزیم به صورت سینرژیک، می‌توانند سبب افزایش فعالیت و پایداری آنزیم شوند.

واژگان کلیدی: الکل دهیدروژناز، فعالیت و پایداری، سری هافمیستر، کتیرا، تثبیت آنزیم.

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
۰۰۰۰-۰۰۰۲-۱۱۸۵-۴۸۵۹

۲. استادیار بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: rasoulsharifi.sci@gmail.com ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۵۰۷۹-۵٦۵۵

مقدمه

"هافمیستر" (Hofmeister) نشان می‌دهد که نمک‌های طبیعی بـر فعالیـت و پایـداری پروتئین‌هـا تـأثیر متفـاوتی دارنـد. نمک‌های هافمیستری، به تأثیر نسبی آنیون‌ها و کاتیون‌ها بر گستره وسیعی از پدیده‌هـا اشـاره می‌کننـد (۳-۱). فعالیـت و پایداری اکثر آنزیم‌ها با سری نمک‌های هافمیستر در ارتباط هستند. این نمک‌ها ویژگی‌های کوزموتروپیک/ کائوتروپیـک (kosmotropic/chaotropic) دارند، که با ضریب ویسکوزیته B (B_+ برای کاتیون‌ها و B_- برای آنیون‌ها) تعیین می‌شوند (٤). نمک‌های طبیعی و یون‌های حاصل از آن‌ها به وضوح بر pH بافر، فعالیت و پایداری آنزیم تأثیر می‌گذارند و هر سـه فاکتور به طورمستقیم یا غیرمستقیم توسط آثار هافمیستری کنترل می‌شوند (۳). با توجه به کاربرد روزافزون آنـزیم‌هـا در صنایع متعدد، تأثیر محلول‌های نمکی غلیظ بر ساختمان و عمل آنزیم‌ها و با محوریت سـری هافمیسـتر، حـائز اهمیـت است. همچنین نشان داده شده است که برخی از آنزیم‌های مزوفیل ، در محلول‌های نمکی غلیظ فعال هستند (۵). الکل دهیدروژناز مخمر (YADH=Yeast Alcohol Dehydrogenase) (EC.۱/۱/۱/۱) ؛ بـا وزن مولکـولي ۱۵۰ kDa ، بـراي انتقال هیدروژن از راه کاتالیز آنزیمي مدلی عالي می‌باشد. الکل دهیـدروژنازهاي مخمـر ویژگـي سوبسـترایي محـدودي داشته، به طوري‌که بیش‌ترین فعالیت را بر استالدهید و اتانول دارد (٦،٧). این آنزیم، در صنایع غذایی، صـنایع دارویـی، بیوراکتورها و بیوسنسورها دارای کاربردهای گسترده‌ای است. متأسفانه آنزیم مذکور پایداری حرارتی بسیار پایینی دارد کـه سبب محدودیت اسـتفاده از آن در صـنایع شـده اسـت. دسـتیابی بـه آنزیم‌هـای مقـاوم، یکـی از اهـداف مهـم صـنایع بیوتکنولوژی است. یکی از روش‌های پایدارسازی آنزیم، تثبیت آن‌ها به روش‌های مختلف است (۸). لذا تثبیـت آنـزیم، سبب پایداری آن شده و در نتیجه استفاده مکرر آنزیم‌های گران‌قیمت را در صنعت میسر می‌سازد (۹). یکی از روش‌های تثبیت آنزیم، روش میکروکپسولاسیون است که در برگرفتن آنزیم در یک غشای نیمه تراوای کپسولی داخل یک محلول آبی را شامل می‌گردد (۱۰).

"کتیرا" (Gum Tragacanth)، بیوپلیمری است که می‌تواند به عنوان یک غشای نیمـه تـراوا در تشـکیل کپسـول نقـش داشته باشد و به عنوان امولسیفایر، پایدار کننده و حجم دهنده در صنایع غذایی، دارویـی و آرایشـی کـاربرد دارد (۱۱). در روش محبوس سازی در ژل (میکروکپسولاسیون)، برای تشکیل پلیمر جامـد، از یون‌هـای آهـن سـه ظرفیتـی و آلومینیـوم استفاده می‌کنند که این یون‌ها سبب تغلیظ ژل و استحکام آن می‌شوند (۱۲). هدف از این مطالعه، محبوس‌سـازی آنـزیم الکل دهیدروژناز مخمر در ژل کتیرا و مطالعه پایداری و فعالیت این آنزیم، در حضور نمک‌های سری هافمیستر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آنزیم الکل دهیدروژناز مخمّر (YADH: A۳۲۶۳) ، کوآنزیم (NAD: N۰۶۳۲) و سوبسترای آن (Ethanol: ۳۲۲۰۵) از سیگما و نمک‌های مختلف، از شرکت‌های فیشر، آلدریچ و مرک خریداری و کتیرا از شرکت فولکا سوئیس خریداری شد.

حبس‌سازی آنزیم در حامل کتیرا

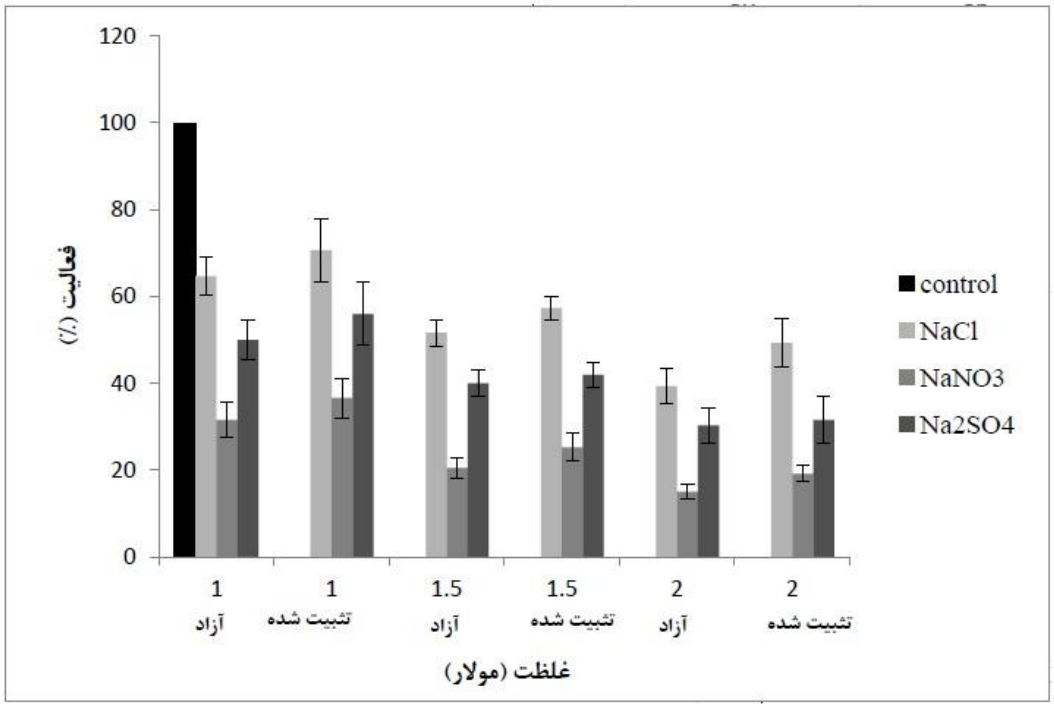
ابتدا محلول کتیرا در آب مقطر ساخته و کتیرا به علت نامحلول بودن در آب هیدراته شد، تشکیل ژل داد و ۲٤ ساعت به آن مهلت داده شد تا سفت گردد(۱۲). پس از تهیه محلول کتیرا ، محلول کلرید آهن III و نیز ۱ میلی گرم آنزیم حل شده در بافر فسفات سدیم (pH۷/۸ , ۵۰ mM) به محلول مذکور اضافه شد و با همزن مغناطیس به منظور خروج کامل حباب‌های گاز، به هم زده شد. سپس توسط سرنگی مخلوط پیش‌گفته، داخل محلول کلرید آلومینیوم چکانده شد و سپس با همزن مغناطیسی به هم زده و تشکیل کپسول‌ها شروع گردید. سپس کپسول‌های حاوی آنزیم توسط آب دیونیزه و بافر فسفات سدیم (٦ pH) شسته و تا قبل از مصرف، در دمای C° ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد (۱۲). پس از محبوس کردن آنزیم، فعالیت و پایداری آن در حضور نمک‌های مذکور مطالعه گردید.

اندازه گیری فعالیت و پایداری آنزیم

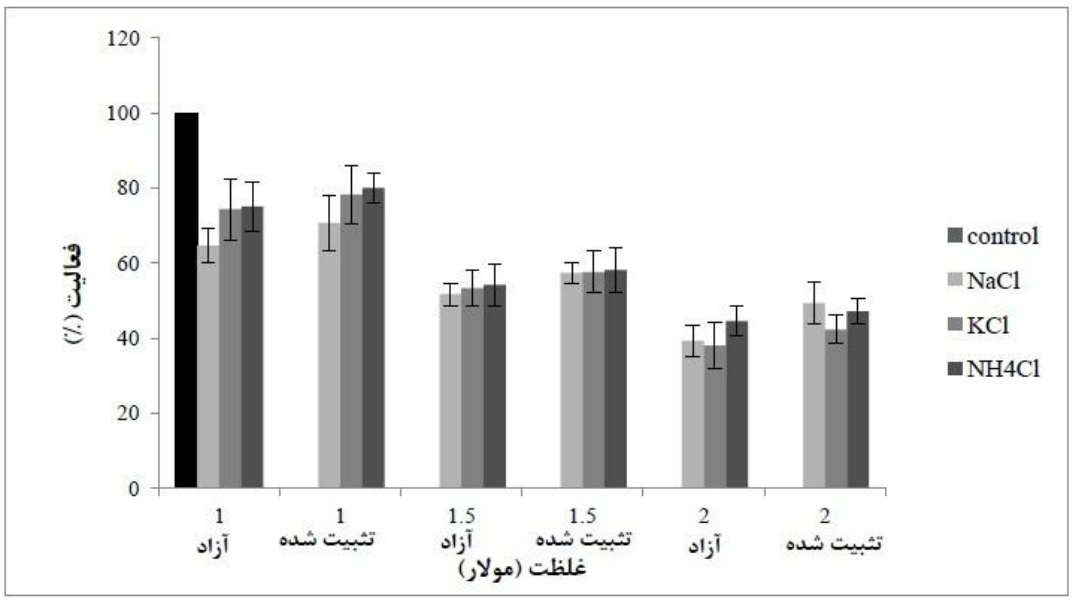
مخلوط واکنش حاوی µL ۱۰ از محلول آنزیمی(۲۰ بار رقیق شده) µL ۹۸۰ اتانول در غلظت‌های مختلف وµL ۱۰ NAD^+ در کووت CC ۱ و افزایش جذب در nm ۳٤۰ (که تشکیل NADH را نشان می‌دهد)؛ با استفاده از اسپکتروفتومتر UV مدل JENWAY ٦۵۰۵ ثبت گردید. برای تعیین فعالیت هر دو آنزیم در غلظت‌های مختلف نمک (۱-۲ مولار)، اتانول در این غلظت‌ها، حل گردید. سرعت اوّلیه (V برحسب $molL^{-1}S^{-1}$) واکنش آنزیمی از شیب شدت جذب (OD) در مقابل زمان به دست آمد. آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار بود. از معادله و منحنی لینیور ـ برک در تعیین پارامترهای سینتیکی هر دو آنزیم استفاده شد. طبق تعریف، یک واحدآنزیم الکل دهیدروژناز، مقداری است که µmols ۱ از NAD^+ را در دقیقه در دمای ^{oc} ۲۵، به NADH تبدیل می‌کند. با توجه به این‌که آثار هافمیستری در دماهای بالا آشکار می‌شوند؛ برای مطالعه پایداری هر دو آنزیم، دو دمای بالای ^{oc}٤۵ و^{oc}۵۵ در نظر گرفته شد. به این منظور محلول‌های آنزیمی حل شده در بافر و حل شده در غلظت‌های مختلف نمک، در دو دمای مذکور انکوبه شدند و در فواصل زمانی ده دقیقه، فعالیت آنزیم‌ها، مطابق روش مذکور اندازه‌گیری و نیمه عمرهای هر یک از آنزیم‌ها، تعیین گردید. در شروع آزمایش، سرعت محاسبه شده برای هر دو آنزیم، ۱۰۰ در نظر گرفته شد و سپس سرعت در بازه‌های زمانی بعدی، با این سرعت، تناسب گرفته و نیمه عمر به این صورت محاسبه شد.

نتایج

نمودارهای ۱ و ۲ تأثیر نمک‌های مختلف بر هر دو آنزیم را نشان می‌دهد



نمودار۱. مقایسه تأثیر نمک‌های سدیم بر فعالیت آنزیم آزاد و محبوس شده



نمودار ۲. تأثیر نمک‌های کلر بر فعالیت آنزیم آزاد و محبوس شده

پارامترهای سینتیکی آنزیم آزاد و محبوس شده در حضور سری نمک‌های هافمیستر

جدول۱. پارامترهای سینتیکی آنزیم آزاد و محبوس شده را در حضور غلظت‌های یک مولار سری نمک‌های هافمیستر نشان می‌دهد.

	K_m(mM)f*	V_{max}(µM/min)f	K_m(mM)c*	V_{max}(µM/min)c
کنترل	۳۱	۰/۲۸	۲۷	۰/۳۲
NaCl	۴۲	۰/۱۳	۴۰	۰/۱۶
KCl	۴۶	۰/۱۸	۴۴	۰/۲۱
$NaNO_3$	۵۳	۰/۱۱	۴۸	۰/۱۵
Na_2SO_4	۳۴	۰/۱۶	۲۶	۰/۱۹
NH_4Cl	۳۳	۰/۱۸	۲۹	۰/۲۲

*(f=آنزیم آزاد، c=آنزیم حبس شده)

جدول۱. پارامترهای کینتیکی آنزیم آزاد و محبوس شده در حضور سری نمک‌های هافمیستر

۴-۴. نتایج مطالعات پایداری آنزیم‌ها در حضور نمک‌ها

جداول ۳ و ٤، نتایج پایداری دمایی آنزیم را در حضور نمک‌ها در دو دمای خشن ۵۵ و ^{oc}٤٥ در قالب نیمه عمر نشان می‌دهند.

	نیمه عمر آنزیم آزاد(دقیقه)	نیمه عمر آنزیم محبوس شده (دقیقه)
کنترل	۳۷	۶۲
NaCl (۱M)	۵۳	۸۱

NaCl(۱/۵M)	۴۲	۶۱
NaCl (۲M)	۳۶	۴۵
KCl (۱M)	۸۷	۱۰۵
KCl (۱/۵M)	۷۲	۹۳
KCl (۲M)	۵۵	۷۲
$NaNO_3$ (۱M)	۲۳	۴۳
$NaNO_3$(۱/۵M)	۱۴	۳۵
$NaNO_3$ (۲M)	۸	۲۳
Na_2SO_4 (۱M)	۲۵۸	۳۷۰
Na_2SO_4 (۱/۵M)	۲۳۲	۳۶۵
Na_2SO_4 (۲M)	۱۹۲	۲۸۶
NH_4Cl (۱M)	۱۳۲	۱۷۳
NH_4Cl (۱/۵M)	۹۵	۱۳۴
NH_4Cl (۲M)	۶۵	۱۱۰

جدول ۳. نیمه عمر آنزیم آزاد و محبوس شده در دمای ^{oc}۴۵ در حضور غلظت‌های مختلف نمکی

	نیمه عمر آنزیم آزاد(دقیقه)	نیمه عمر آنزیم محبوس شده (دقیقه)
کنترل	۷	۳۴
NaCl (۱M)	۱۸	۴۸
NaCl (۱/۵M)	۱۲	۲۶
NaCl (۲M)	۸	۱۸
KCl(۱M)	۱۶	۲۴
KCl (۱/۵M)	۱۰	۲۲
KCl (۲M)	۶	۱۹
$NaNO_3$ (۱M)	۴	۲۱
$NaNO_3$(۱/۵M)	۳	۱۸
$NaNO_3$ (۲M)	۲	۱۳
Na_2SO_4 (۱M)	۱۳۰	۱۸۰
Na_2SO_4 (۱/۵M)	۱۰۰	۱۳۸
Na_2SO_4 (۲M)	۸۵	۱۲۳
NH_4Cl (۱M)	۲۵	۳۶

NH_4Cl (۱/۵M)	۲۰	۲۸
NH_4Cl (۲M)	۱۱	۲۶

بحث

هدف از این مطالعه، محبوس کردن آنزیم الکل دهیدروژناز مخمر در ژل کتیرا و مطالعه پایداری و فعالیت این آنـزیم، در حضور نمک‌های سری هافمیستر می‌باشد. آنزیم الکل دهیدروژناز، در حضور نمک‌های معدنی مختلـف فعالیـت کاهشی را نشان داد. بررسی پارامترهای کینتیکی آنزیم آزاد و تثبیت شده در جدول۳، نشان مـی‌دهـد کـه ایـن کـاهش فعالیت بیش‌تر به علت افزایش در K_m آنزیم است. در محلول بدون نمک (کنترل) مقادیر V_{max} و K_m آنزیم آزاد و حبس شده به ترتیـب ۰/۲۸μM/min، ۳۱mM و ۳۲/۰μM/min ، ۲۷ mM بـود. وقتـی کـه غلظـت‌هـای ۱Mنمـک‌هـای مختلف، به مخلوط آنزیمی افزوده شد، محدوده K_m و V_{max} آنزیم آزاد ۳۳-۵۳ mM، ۰/۱۸-۰/۱۳ μM/min و آنزیم حبس شده ۲۷-٤٤ mM، ۰/۲۲-۰/۱۵ μ M/min بود که در مورد آنزیم آزاد به کاهش چشمگیر در نسبت Vmax/Km منجر گردید؛ ولی فرایند حبس کردن، کاهش K_m و افزایش V_{max}، نسبت بـه آنـزیم آزاد، در حضـور سـری نمـک‌هـای هافمیستر را موجب گردید. نمک‌ها، از طریق تأثیر بر روی حلالیت سوبسترا در فاز مایع و نیز در واکنش با سوبسـترا، بر Km تأثیر می‌گذارند (افزایش Km). هم Km و هم Vmax، می‌توانند تحت تأثیر برهمکنش‌های هم کاتیون‌هـا و هـم آنیون‌های نمک با مولکول آنزیم، به ویژه با جایگاه فعال، قرار گیرند(۱۳). آنزیم محبوس شده تا حدودی بـه ممانعـت ازین فرایند منجر می‌شود. باقی‌مانده‌های ٦۰-٤۰ در YADH ممکن است به عنوان چاپرون درون مولکولی عمل کنند و مانع آنفولدینگ کامل YADH در طول تنش دمایی شوند(١٤). مطالعه میراولیائی و همکاران (۱۵) بر روی آنزیم‌های آزاد الکل دهیدروژنازهای مخمر، کبد اسب و ترموفیل، نشان می‌دهد کـه ایـن آنزیم‌هـا در حضـور نمـک‌هـای سـری هافمیستر در غلظت‌های بیش از ۱ مولار، همچنان فعال باقی می‌مانند؛ به طوری‌که فعالیت آنزیم در حضور نمک‌های با آنیون کوزموتروپ، از جمله استات و سولفات بالاتر است. نتایج مطالعهٔ آن‌ها نشان می‌دهد کـه الکـل دهیـدروژناز مخمر، در حضور نمک‌های با ویژگی کوزموتروپیک / کائوتروپیک مشابه، دارای فعالیـت بهینـه‌ای اسـت. همچنـین، مطالعه اکبری و همکاران (١٦) نشان می‌دهد که نمک‌های اسیدهای آمینه بر فعالیت آنزیم الکـل دهیـدروژناز مخمـر دارای تأثیر دوگانه است و فعالیت آنزیم در حضور یون‌های کوزموتروپ از جمله آسپارتات بیش‌تر است. حـبس‌کـردن آنزیم الکل دهیدروژناز تا حدودی می‌تواند مانع تأثیرات نامطلوب آنیون‌های کائوتروپ و کاتیون‌های کوزموتروپ بـر روی آنزیم شود. عوامل مختلفی بر پایدارسازی آنزیم مؤثر هستند که تثبیت آن‌ها و افزودن مواد پایدارکننده بـه محـیط واکنش آنزیمی، یکی از آن‌هاست (۱۷). اثر برخی از نمک‌های مذکور، بر پایداری آنـزیم، همچـون محبـوس‌سـازی آنزیم، تأثیر پایدار کننده می‌باشد؛ چنان‌که این دو فرایند، همزمان، باعث افزایش نیمـه عمـر آنـزیم شـدند و در مـورد نمک‌هایی که به انحلال آنزیم منجر می‌شوند، حبس کردن آنزیم مانع دناچوراسیون دمایی سریع آنزیم شده و در نتیجه نیمه عمر آنزیم افزایش می‌یابد (جدول ۳ و ٤). نمک‌ها اثر پایدار کنندگی بـیش‌تـری بـر آنـزیم در دمـای بـالا نشـان

می‌دهند که احتمالاً به علت تأثیر الکترواستاتیک عمومی است. آنیون‌ها در زمینهٔ تأثیر بـر روی پایـداری آنـزیم نقـش غالب‌تری ایفا می‌کنند (۱۸). آنیون‌هایی مثل کلرید که به صورت ضعیف هیدراته می‌شوند، مستقیماً به پروتئین متصل می‌گردند و آنیون‌های شدیداً هیدراته مثل سولفات، غالباً به صورت غیرمستقیم با پروتئین‌ها بـرهم کـنش می‌دهنـد (از طریق دخالت مولکول‌های آب) (۱۹). در حقیقت مکانیسم غالبی که توسط آن کائوتروپ‌ها پروتئین را آنفولد می‌کنند، جذب سطحی مستقیم آن‌ها به بخش‌های به صورت ضعیف هیدراته شده پروتئین می‌باشد (۲۰). اثر سینرژیک نمـک پایدار کننده و کتیرا می‌تواند به استفاده ازین آنزیم، در صنایع مختلف کمک کند و محبوس‌سازی آنزیم در حامل غیـر سمی کتیرا مانع آثار مخرب یون‌های ناسازگار می‌شود. همچنین کتیرا مانع ورود فلزات سنگین به تنـه آنـزیم می‌شـود؛ چرا که همچون قفسی آنزیم را فراگرفته و مانع ورود فلزات سنگین می‌شود.

نتیجه‌گیری

می‌توان با استفاده از نمک‌های سری هافمیستر و حامل کتیرا مقاومت دمایی آنزیم را در برابر حـرارت افـزایش داد و از آن در صنعت استفاده نمود، حتی محبوس کردن آنزیم در حامل کتیرا می‌تواند باعث احیای صنعت نانوایی سنتی گردد.

References

۱- I. Okur H, Hladílková J, B. Rembert K, Cho Y. Reversal of the Hofmeister Series: Specific Ion Effects on Peptides .*Phys. Chem.* B. ۲۰۱۷, ۱۲۱, ۹, ۱۹۹۷-۲۰۱۴

۲- Zhang, J. Protein-Protein Interactions in Salt Solutions, in Protein-Protein Interactions – Computational and Experimental Tools*; Intech China: Shanghai,* ۲۰۱۲; ۱۸, ۳۵۹- ۳۷٦

۳-Yang Z. Hofmeister effects: an explanation for the impact of ionic liquids on biocatalysis. *J Biotechnol*. ۲۰۰۹; ۱٤٤ : ۱۲_۲۲

٤- Dos Santos AP, Levin Y. Effective charges and zeta potentials of oil in water microemulsions in the presence of Hofmeister salts. *J ChemPhys.* ۲۰۱۸*;* ۱٤;۱٤۸(۲۲):۲۲۲۸۱۷.

٥-Sharifi R, Soleimani S, Amini N, et al. Activity and stability of yeast alcohol dehydrogenase in present of Chaotropic and Kosmotropic Salts.*NCMB.* ۲۰۱٤; ٤;۱٤, ۷۳-۷۸

٦-Baskar Raj S, Ramaswamy S, V. Plapp B. Yeast Alcohol Dehydrogenase Structure and Catalysis. *Biochemistry*. ۲۰۱٤; ۱٦; ٥۳(۳٦): ٥۷۹۱_٥۸۰۳

۷-Kandarač J, Leskovac V, Peričin D, Popović M, Trivić S. Binding of coenzyme to yeast alcohol dehydrogenase. *Jiurnal of the Serbian Society*. ۲۰۱۰; ۷٥(۲):۱۸٥-۱۹٤

۸-Cahyaningrum S.E, Herdyastusi N, Maharani D.K. Immobilization of glucose isomerase in surface-modified chitosan gel beads. Res. *J. Pharm. Biol. Chem. Sci*. ۲۰۱٤;٥, ۱۰٤_۱۱۱

۹-Zhang Y, Ge J, Liu Z. Enhanced activity of immobilized or chemically modified enzymes. *ACS Catal*. ۲۰۱٥;٥, ٤٥۰۳_٤٥۱۳.

۱۰-Homaei A. Enzyme Immobilization and its Application in the Food Industry. *Advances in Food Biotechnology.*۲۰۱٦*;* ۱٤۰-۱٦٤

۱۱-Verbeken D, Dierckx S, Dewettinck K. Exudate gums: occurrence, production, and applications.

*App. Mic. Biotech.*۲۰۰۳; ٦۳،۱۰-۲۱

۱۲-Otadi M, Soltani F, Vaziri A, Seifkordi A. Kheirolomoom A. Optimum Condition for production of ٦-APA with immobilized E.Coli ATCC۱۱۱۰٥. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.*۲۰۰٦; ۲٥ (۲) , ۹۷-۱۰٤

۱۳-N. Eisele D, Linke M, Nimtz R. G. Heterologous expression, refolding and characterization of a salt activated subtilase from Pleurotus ostreatus. *Process Biochem.*۲۰۱۱, ٤٦, ۱۸٤۰-۱۸٤٦

۱٤-Alama. M. F, Laskara A A, Zubaira M, Baigb U, Younusa H. Immobilization of yeast alcohol dehydrogenase on polyaniline coated silver nanoparticles formed by green synthesis. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. ۲۰۱٥،۷۸_۸٤.

۱٥-Miroliaei M, Sharifi R, J. Halling P. Three Diverse Alcohol Dehydrogenases Remain Active at Salt Concentrations Greater than ۱ M. *Biomed Biotechnol*, ۲۰۱٤; ۲ (۲), ۳۷-٤۱

۱٦-Akbari R, Sharifi ., Abolfathi AA. The effect of amino acid salts on activity and stability of alcohol dehydrogenase. *IJBR*. ۲۰۱٦;۱٦۳۰-۱٦۳٤.

۱۷-Gupta A, Khare SK. Enzymes from solvent-tolerant microbes: useful biocatalysts for non-aqueous enzymology. *Crit Rev Biotechnol*, ۲۰۰۹; ۲۹:٤٤_٥٤.

۱۸-Chen C, J. Halling P, Liu X-J, Yang Z. Hofmeister effects on activity and stability of alkaline phosphatase. *Biochimica et Biophysica Acta*. ۲۰۱۰; ۱۸۰٤: ۸۲۱_۸۲۸۱.

۱۹-S Cremer, P., Zhang, Y., Interaction between macromolecules and ions:the Hofmeister series. Current Opinion in Chemical Biology , ۲۰۰٦ ۱۰:٦٥۸-٦٦۳

۲۰-Collins, KD., Ions from the Hofmeister series and osmolytes: effects on proteins in solution and in the cryst٦٤.Cowan, DA., Thermophilic proteins: stability and function in aqueous and organic solvents. Comp Biochem Physiol A Physiol ۱۹۹۷ ۱۱۸:٤۲۹-٤۳۸

Hofmeister Effects on Activity and Stability of Confined Alcohol Dehydrogenase on Gum Tragacanth Carrier

Robab Baibordi [۱], Rasoul Sharifi [۲*]

۱-Master Graduate, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

۲-Assistance Professor in Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

*Corresponding author's email: rasoulsharifi.sci@gmail.com

Abstract

Background and Objective: Using natural salts and enzyme confinement are one of the ways to increase the enzyme's stability. Therefore, the present study evaluated the effect of salts increasing on the free and confined alcohol dehydrogenase enzyme in cartilage carriers.

Methods and Materials: The yeast alcohol-dehydrogenase enzyme the after purchase was confined in the Gum Tragacanth and its activity was evaluated in the presence of different concentrations of sodium and chlorine salts (۱-۲ M).

The stability of the confined enzyme at two temperatures above ٤٥ ° C and ٥٥ ° C was studied in the presence of this salt.

Results: The results showed that the enzyme confinement reduced the inhibitory effect of salts. Also, the cnfined enzyme in compared with the free enzyme showed optimal activity and stability. (Half-life was ٣٧ and ٦٢ minutes at ٤٥ ° C Respectively).

Conclusion: The results showed that kosmotropic anions and enzyme confinement as synergistic can increase the activity and stability of the enzyme.

Keywords: Alcohol dehydrogenase, activity and stability, Hofmeister series, Gum Tragacanth, Enzyme confinement