دراسات بيوتكنولوجية وتقسيمية وإنزيمية على قابلية البلاستيك الميكروبى للتحلل بيولوجيا

رسالة

مقدمة للحصول على درجة الدكتوراة

فى

الميكروبيولوجيا

من

خالد عبد الرحمن يوسف البنا

إلى

معهد البيوتكنولوجى والميكروبيولوجى

جامعة مونستر - ألمانيا

٢٠٠٤

الملخص العربى لرسالة الدكتوراه

دراسات بيوتكنولوجية وتقسيمية وإنزيمية على قابلية البولى ثيو إستر الميكروبى للتحلل بيولوجيا

- فى هذه الدراسة تم إجراء إنتاج عدة أنواع من البيوبولى ثيوإستر والذى يعتبر نوع جديد من البوليمرات الحيوية المنتجة بواسطة بكتيريات مهندسة وراثيا حيث انتجت هذه الأنواع من البيوبولى ثيوإستر المستخدمة فى هذه الدراسة من بعض المواد السامة مثل : mercaptopropionate, mercaptobutyrate, حيث تقوم البكتيريا بعمل detoxificationلهذه المركبات. وتم تقييم هذه البوليمرات من حيث قابليتها للتحلل ميكروبيولوجيا وذلك بإضافة هذه البوليمرات فى صورة معلق مستحلب يسهل إضافتها بنسب دقيقة كمصدر وحيد للكربون الى بيئة معدنية خالية من مصادر الكربون. وفى هذه الدراسة تم عزل ٢٢عزلة بكتيرية تم عزلها من عدة مصادر مختلفة، وهذه العزلات كانت متنوعة فى قدراتها لتحليل الأنواع المختلفة من هذه البوليمرات الحيوية - ومن هذه الدراسة وجد ايضا ان بعض هذه البوليمرات لايتحلل على الإطلاق
- اختيرت أقوى العزلات المحلله لهذه البوليمرات وتم تعريفها بإستخدام أحدث التقنيات المستخدمة فى تصنيف البكتيريا، حيث تم اختيار العزلة K2 والعزلة ،،K14 كافضل العزلات التى لها القدرة على تكسير اكثر من نوع من هذه البوليمرات.ثم أجريت إختبارات التصنيف الكامل لهاتين السلالتين عن طريق اجراء الإختبارات المورفولوجي والفسيولوجية بجانب استخدام التقنيات والإختبارات الأتية: 16s rDNA sequencing, DNA-DNA hybridization, G+C content of DNA و Fatty acid analysis
- وقد اتضح من هذه الدراسة التصنيفية أن العزلة K14 تختلف عن باقي السلالات وتم وضعها في جنس جديد تحت اسم ***Schlegelella thermodepolymerans*** وسجل هذا الجنس عالميا في الـ **Gene Bank Database** تحت رقم **AY 15 28 24** ،وتم حفظ هذه العزلة فى البنك الدولى لحفظ المزارع بألمانيا تحت رقم **DSM 15344^T** وكذلك فى البنك الدولى لحفظ المزارع ببلجيكا تحت رقم **LMG21644^T** وتتميز هذه السلالة بأنها محبة للحرارة- تنمو جيدا على البيئات العادية، وتفرز كمية كبيرة نسبيا من الإنزيمات الخارجية Depolymerases المحللة للبلاستيك- كما يمكنه النمو في مدى

واسع من الـ pH بين مدى من ٦-٩، والـ pH المثلى هي ٧. وتم تصنيف العزلة K2 كـ *Pseudomonas indica* k2

- تمت دراسة منحنى النمو للسلالات المختارة، ولأفضل إنتاج من الإنزيم لتكسير هذه البوليمرات وذلك بتقدير التغير في عدد الخلايا، وتقدير كمية البروتين المفرز خارجيا، وكذلك قياس نشاط الإنزيم أثناء النمو. ولقد أمكن عزل وتنقية الإنزيمات المحللة لهذه البوليمرات باستخدام عدة طرق وأجريت الإختبارات اللازمة لمعرفة الخصائص المختلفة لهذه الإنزيمات ، ووجد أن الDepolymerase المعزول من الجنس ***Schlegelella thermodepolymerans*** ثابت حراريا حتى ١٠٠ °م ، وأقصى قوة نشاط له عند ٨٠ °م وان له مدى واسع فى القدرة على تكسير اكثر من نوع من هذه البوليمرات. كذلك الإنزيم المعزول من العزلة K2 وجد ان له مدى واسع فى القدرة على تكسير اكثر من نوع من هذه البوليمرات وبعمل Amino acid sequencing له وجد انه مشابه لحد كبير للإنزيمات المحللة للبولى إستر.

-و اجريت عدة تجارب لتحديد نواتج تكسير هذه البوليمرات وذلك بإستخدام:

GC , GC(ESI /MS, Infrared spectroscopic analysis, MALDI-TOF analysis,

- ومن هذه الدراسة وجد ان الإنزيمات المنقاه تستطيع تكسير سلسلة البوليمر الى وحدات مفردة من 3HB بجانب اجزاء صغيرة قصيرة السلسلة من البوليمر.

- من هذه الدراسة نستخلص ان البيوبولى ثيوإستر يعتبر مجال جديد فى البوليمرات الحيوية التى يمكن ان تستخدم فى كثير من المجالات الطبية و الصناعية و الزراعية.