

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

پایداری گلوکز اکسیداز کپسوله شده در ژل پلی اکریل آمید

بهاره فراهانی محرابی^۱ و لیلا حسنی^{۲*}

۱- دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان، زنجان، کدپستی ۴۵۱۳۷-۶۶۷۳۱، ایران hasani@iasbs.ac.ir

چکیده

گلوکز اکسیداز یک آنزیم مهم است که به طور گسترده در صنعت و پزشکی مورد استفاده قرار می گیرد. بنابراین پایداری این آنزیم در بیوتکنولوژی یک دستاورد بزرگ محسوب می شود. برخی شرایط محیطی شبیه دما، نمک های آلی و اسیدیته بر روی پایداری آنزیم موثرند. چندین راهکار شبیه تثبیت پروتئین و مهندسی حلال و پروتئین برای افزایش پایداری آنزیم و حفظ ساختار آن در طول مدت ذخیره سازی و به کارگیری آن وجود دارد. در این پژوهش آنزیم گلوکز اکسیداز در ژل پلی اکریل آمید به عنوان یک روش تثبیت، کپسول شده و پایداری آن به وسیله روش طیف سنجی جذبی ارزیابی شد. برای کپسول کردن آنزیم ان اکریل اکسی سوکسینیمید به عنوان لینکری که به باقیمانده لایزین متصل می شود به محلول آنزیم اضافه شده و سپس آنزیم توسط ژل حاصل از اکریل آمید و بیس اکریل آمید کپسوله شد. نمونه های متنوعی از آنزیم کپسوله شده در غلظت های مختلفی از لینکر و اکریل آمید تهیه شدند. فعالیت باقیمانده آنزیم در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد اندازه گیری شد و نتایج نشان دادند که نسبت پایین لینکر و مواد ژل برای کپسوله کردن آنزیم، اثر قابل توجهی بر ساختار پروتئین ندارد؛ اما در نسبت بالا، پایداری آنزیم تا حدی کاهش پیدا می کند. پایداری آنزیم در ۴۰ و ۵۰ درصد حلال آلی دی متیل سولفوکساید نشان داد کپسوله کردن نه تنها در غلظت های پایین، بلکه در غلظت های بالا نیز تغییر معنی داری بر پایداری آنزیم نداشته است. بنابراین شرایط کپسوله کردن که منجر به کپسوله شدن محکم و شل می شود برای پایداری آنزیم اثر می گذارد و یافتن شرایط بهینه برای کپسول کردن عامل مهمی در تثبیت آنزیم است.

واژه های کلیدی: پایداری آنزیم، گلوکز اکسیداز، کپسوله کردن، پلی اکریل آمید

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۶-۵ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

منابع:

- [۱] Sukhacheva, M. V., Davydova, M. E., & Netrusov, A. I. (۲۰۰۴). Production of *Penicillium funiculosum* α -glucose oxidase and its properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*, ۴۰(۱), ۲۵-۲۹.
- [۲] Bommarius, A. S., & Paye, M. F. (۲۰۱۳). Stabilizing biocatalysts. *Chemical Society Reviews*, 42(۱۵), ۶۵۳۴-۶۵۶۵.
- [۳] Kim, J., & Grate, J. W. (۲۰۰۳). Single-enzyme nanoparticles armored by a nanometer-scale organic/inorganic network. *Nano Letters*, ۳(۹), ۱۲۱۹-۱۲۲۲.
- [۴] Iyer, P. V., & Ananthanarayan, L. (۲۰۰۸). Enzyme stability and stabilization—aqueous and non-aqueous environment. *Process biochemistry*, ۴۳(۱۰), ۱۰۱۹-۱۰۳۲.
- [۵] Frenkel-Mullerad, H., & Avnir, D. (۲۰۰۵). Sol-gel materials as efficient enzyme protectors: preserving the activity of phosphatases under extreme pH conditions. *Journal of the American Chemical Society*, 127(۲۲), ۸۰۷۷-۸۰۸۱.

Stability of encapsulated glucose oxidase in polyacrylamide gel

Bahareh Farahani Mehrabi^۱, Leila Hassani*

۱. * Department of Biological Sciences, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences
(IASBS), Zanjan ۴۵۱۳۷-۶۶۷۳۱, Iran

Abstract

Glucose oxidase is an important enzyme has extensively used in industry and medicine, so stabilization of this enzyme is of great importance in biotechnology. Environmental conditions like temperature, organic solvents and pH have influence on the enzyme stability. There are several strategies like immobilization, protein and solvent engineering to increase stability of enzymes and maintain their structure during storage and application. In this research, glucose oxidase was encapsulated in polyacrylamide gel as an immobilization method and its stability was evaluated by absorption spectroscopic technique. For encapsulation, N-acryloxysuccinimide (NAS) as a linker that binds to lysine residue was added to the enzyme solution and then the enzyme was encapsulated in the gel by adding acrylamide and bisacrylamide. Various encapsulated samples were prepared at different concentrations of the linker and acrylamide. The remaining activity of the enzyme at ۵۰ °C was measured and the results indicated that at the low ratio of linker and the gel material to the enzyme, encapsulation has no remarkable effect on the protein stability, but at the high ratio, stability of the enzyme decreases to some extent. Stability of the enzyme at ۴۰٪ and ۵۰٪ DMSO organic solvent indicated that the encapsulation not only in the low concentration, but also at the high concentration of the gel has no meaningful effect on the enzyme stability. Consequently, encapsulating condition that leads to tight or lose encapsulation influences on the enzyme stability and finding the optimum condition for encapsulation is an important factor for stabilization of the enzyme through encapsulation.

Key words: Stabilization, Glucose oxidase, Polyacrylamide gel, Encapsulation

References

18th National and 3rd International Conference
of Iranian Biophysical chemistry

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

- [۶] Sukhacheva, M. V., Davydova, M. E., & Netrusov, A. I. (۲۰۰۴). Production of *Penicillium funiculosum* ϵ -glucose oxidase and its properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*, ۴۰(۱), ۲۵-۲۹.
- [۷] Bommarius, A. S., & Paye, M. F. (۲۰۱۳). Stabilizing biocatalysts. *Chemical Society Reviews*, 42(۱۵), ۶۵۳۴-۶۵۶۵.
- [۸] Kim, J., & Grate, J. W. (۲۰۰۳). Single-enzyme nanoparticles armored by a nanometer-scale organic/inorganic network. *Nano Letters*, ۳(۹), ۱۲۱۹-۱۲۲۲.
- [۹] Iyer, P. V., & Ananthanarayan, L. (۲۰۰۸). Enzyme stability and stabilization—aqueous and non-aqueous environment. *Process biochemistry*, ۴۳(۱۰), ۱۰۱۹-۱۰۳۲.
- [۱۰] Frenkel-Mullerad, H., & Avnir, D. (۲۰۰۵). Sol-gel materials as efficient enzyme protectors: preserving the activity of phosphatases under extreme pH conditions. *Journal of the American Chemical Society*, 127(۲۲), ۸۰۷۷-۸۰۸۱.