

تاثیر عنصر روی بر عملکرد الکل دهیدروژناز

آرزو توکلی^{۱*}، اینون حمزه^۲، امیر رابو^۳

^۱ دانشجوی دکتری، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و تکنولوژی، دانشگاه UKM مالزی

^۲ استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و تکنولوژی، دانشگاه UKM مالزی

^۳ استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم و تکنولوژی، دانشگاه UKM مالزی

* نویسنده مسئول: a_tavakoli2003@yahoo.com

خلاصه:

سابقه و هدف: الکل دهیدروژنازها (ADHs) جزو خانواده اکسیدوردکتازها هستند که می‌توانند الکل را به آلدهید تبدیل کنند. واحدهای ساختمانی موجود در الکل دهیدروژناز در دو گروه اصلی جایگاه کاتالستی و جایگاه اتصال برای کوآنزیم قرار می‌گیرند. اتم روی (Zn) به بخش کاتالستی متصل شده و دومین اتم Zn^{2+} در ساختمان پروتئین نقش دارد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر Zn^{2+} بر بنزیل الکل دهیدروژناز (BADH) در گونه‌ای از رودوکوکوس است.

مواد و روش‌ها: بنزیل الکل دهیدروژناز نو ترکیب با استفاده از ستون نیکل در دستگاه AKTA prime خالص‌سازی شده و ویژگی‌های بیوشیمیایی آن براساس واکنش NADH-NAD در ۳۴۰ nm ارزیابی شد. سپس توالی آمینواسیدی و ساختمان پروتئین بنزیل الکل دهیدروژناز بررسی گردید.

نتایج: بنزیل الکل دهیدروژناز از برخی هیدروکربن‌های آروماتیک نظیر تولوئن و بنزیل الکل به‌عنوان سوپسترا استفاده کرده و آن‌ها را به بنزآلدهید تبدیل می‌کند که توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی اسپکترومتری جرمی (GC-MS) قابل سنجش است. بهترین فعالیت آنزیمی در غلظت ۱/۲ میلی‌مولار Zn^{2+} تعیین شده، درحالی‌که در صورت فقدان Zn^{2+} هیچ‌گونه فعالیت آنزیمی مشاهده نگردید. در دمای مطلوب برای فعالیت آنزیم در ۲۵ °C، در pH کمتر از ۶، فعالیت و میزان Zn در آنزیم کاهش می‌یابد. براساس توالی آمینو اسیدی حضور یک ساختار فلزی در بنزیل الکل دهیدروژناز ثابت شد که اتصال دو اتم روی در هر مولکول به‌عنوان کوفاکتور را نشان می‌داد.

نتیجه‌گیری: بنزیل الکل دهیدروژناز گونه رودوکوکوس در این مطالعه وابسته به فلز روی بوده که با الکل دهیدروژناز موجود در پستانداران (گروه اول)، الکل دهیدروژناز وابسته به روی و فرمالدهید دهیدروژناز شباهت دارد.

واژگان کلیدی: الکل دهیدروژناز، روی، جایگاه کاتالست، فعالیت آنزیمی

The effect of zinc on alcohol dehydrogenase activity

Tavakoli A^{1*}, Hamzah A¹, Rabu A²

1- Department of Microbiology, Faculty of Science and Technology, University of Kebangsaan, Malaysia,
I. R. Iran.

2- Department of Biochemistry, Faculty of Science and Technology, University of Kebangsaan, Malaysia,
I. R. Iran.

* Corresponding Author: a_tavakoli2003@yahoo.com

Abstract:

Background: Alcohol dehydrogenases (ADHs) which are belong to Oxidoreductase family, can convert alcohol to aldehyde. Several subunits exist in ADH is divided into two main groups including catalytic domain and coenzyme binding domain. The catalytic domain would be linked to zinc atom and the second zinc has a role in protein structure. This study aimed to examine the effect of zinc on the benzyl alcohol dehydrogenase (BADH) in *Rhodococcus* sp.

Materials and Methods: The recombinant BADH was purified by NI-NTA column using AKTA prime. The biochemical characteristics of the protein were determined based on NAD-NADH reaction at 340 nm. The amino acid alignments and protein structure of BADH were evaluated.

Results: The BADH has this potential to use many aromatic hydrocarbons such as toluene and benzyl alcohol as a substrate and convert them to benzaldehyde which was detected by Gas Chromatography- Mass Spectrophotometry. The optimal activity of enzyme was obtained at Zinc concentration of 1.2 mM. The lack of Zinc (Zn^{2+}) led to no BADH activity. At optimal temperature of 25°C and pH lower than 6.0, both activity and the amount of Zinc in BADH were decreased. Based on amino acid alignment, a metallo-structure was shown in the BADH and there were two zinc ion binds in each molecule as a cofactor.

Conclusion: The BADH from *Rhodococcus* sp is a zinc-dependent alcohol dehydrogenase, which is related to a diverse group of proteins such as mammalian ADH (class I), zinc-dependent alcohol dehydrogenase and formaldehyde dehydrogenase.

Keywords: Alcohol dehydrogenase, Zinc, Catalytic domain, Enzyme activity