تاریخ چاپ: تابستان ۱۳۹۱

# خالص‌سازی غشای ارغوانی از باکتری هالوباکتریم سالیناروم[1] و بررسی خواص جذب اسپکتروسکپی و امواج میکروویو توسط آن

مهدی حسن شاهیان: دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

## چکیده

باکتری‌های نمک‌دوست قادر به رشد در محیط فاقد نمک نیستند و دارای رشد بهینه در محیط‌هایی با میزان شوری نسبتاً زیاد هستند. آرکئای فوق‌العاده نمک‌دوست، شیمیوارگانوتروف هستند و بیش‌تر گونه‌ها هوازی اجباری هستند. باکتریورودوپسین یك پیگمان انتقال‌دهندهٔ انرژی با استفاده از نور در غشای ارغوانی است، که تنها در نمک‌دوست‌ها یافت می‌شود. باکتری *هالوباکتریم سالیناروم*[1] که در تحقیق قبلی از دریاچهٔ نمک قم جداسازی شده بود، برای جداسازی و خالص‌سازی غشای ارغوانی به‌کار رفت. غشای ارغوانی (PM) باکتری *هالوباکتریم سالیناروم* با استفاده از روش کشت باکتری و سپس دیالیز و سانتریفوژ با دور بالا جداسازی شد. مطالعات جذب نوری در nm ۵۶۰ و بررسی نسبت جذب ۲۸۰/۵۶۰ nm برای اثبات خلوص غشای ارغوانی استفاده شد. فعالیت تغییر pH غشای ارغوانی با محلول نمکی حاوی $MgCl_2$ و KCl سنجیده شد. به‌کمک دستگاه اشعه‌دهی امواج میکروویو میزان جذب امواج میکروویو توسط غشای ارغوانی اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از جداسازی غشای ارغوانی نشان داد که نسبت جذب ۲۸۰/۵۶۰ در این طیف برابر ۳/۳ بود که دلالت بر خلوص غشای ارغوانی جداسازی شده دارد. میزان ۳۵ میلی‌گرم غشای ارغوانی از ۴ لیتر محیط کشت حاصل گردید. غشای خالص شده فعال بود به‌طوری‌که به ازای هر ۶ ساعت مقدار ۰/۱۵ واحد کاهش pH در سوسپانسیون دیده می‌شد. این غشای ارغوانی میزان ۶۰ درصد از امواج میکروویو را جذب می‌کرد. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تنوع گسترده‌ای در آرکئای فوق‌العاده نمک‌دوست در اکوسیستم‌های ایران وجود دارد و می‌توان از باکتریورودوپسین حاصل در اهداف نانوتکنولوژی استفاده کرد.

## مقدمه

میکروارگانیسم‌هایی که قادر به زندگی در شرایط سخت نظیر دمای زیاد و کم، pH قلیایی و اسیدی، فشار هیدروستاتیك بالا و غلظت بالای نمك هستند را اصطلاحاً اکسترموفیل[2] می‌نامند. نمك‌دوست‌ها[3] گروهی از اکسترموفیل‌ها هستند که قادر به رشد در محیط واجد نمك سدیم کلراید هستند و برای زندگی در محیط‌های شور تطابق یافته‌اند [۶]. تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای روی آرکئای نمك‌دوست انجام شده است. این میکروارگانیسم‌ها

**واژه‌های کلیدی:** نمک‌دوست، غشای ارغوانی، دیالیز، امواج میکروویو و باکتریورودوپسین

دریافت ۸۹/۱۲/۹ پذیرش ۹۰/۱۰/۱۱

نویسنده مسئول hasanshahi@gmail.com

۱. *Halobacterium salinarum* ۲. Extremophile ۳. Halophiles



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

دارای باکتریورودوپسین[۱]، هالورودوپسین[۲]، واکوئل‌های گازی، پروتئین‌های اختصاصی و تطابق بی‌نظیر با غلظت بالای نمك هستند. در مقایسه با آرکئای نمك‌دوست، باکتری‌های حقیقی نمك‌دوست و تحمل کنندهٔ نمك، علی‌رغم گستردگی وسیع جغرافیایی و پتانسیل بالا در کاربردهای بیوتکنولوژی و نانوتکنولوژی، کم‌تر بررسی شده‌اند [۲]، [۷].

یک نمک‌دوست ارگانیسمی است که حداقل به ۱/۵ مولار NaCl برای رشد نیاز دارد. اکثر گونه‌ها به ٤-۲ مولار NaCl برای رشد بهینه نیاز دارند. در واقع همهٔ نمک‌دوست‌های فوق العاده می‌توانند در ۵/۵ مولار نمک رشد کنند. *هالوباکتریم سالیناروم* ارگانیسمی مدل، برای شاخهٔ آرکئای نمک‌دوست است. این باکتری باسیلی متحرک است و می‌تواند در محیط‌های فوق‌العاده شور زندگی کند و از گونه‌های نادری است که قادر به رشد در نمک اشباع است [۱].

*هالوباکتریم سالیناروم* از نور به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کند این به‌دلیل فعالیت پروتئین رتینال یا همان باکتریورودوپسین به‌عنوان پمپ هدایت‌کنندهٔ پروتون است [۸]، [۹]. پمپ پروتونی مشتق از نور باکتریورودوپسین پروتون را از عرض غشای سلولی هدایت می‌کند و ATP از طریق فوتوفسفریلاسیون تولید می‌شود که به‌عنوان منبع انرژی شیمیایی برای رشد سلول استفاده می‌شود. باکتریورودوپسین، در صفحات شش وجهی به‌نام غشای ارغوانی سازمان‌دهی می‌شود. که قسمتی از غشای سلولی هستند [۱۲]، [۱۵].

باکتریورودوپسین کاربردهای بیوتکنولوژیکی متعددی دارد که از بین آن‌ها می‌توان ایجاد سلول‌های خورشیدی با استفاده از تلقیح باکتریورودوپسین به‌داخل دو لایه لیپیدی، شوری‌زدایی با به‌کار گرفتن آنتی پورت H/Na، سنتز ATP و طراحی نانو حفر ه‌ها در نانوتکنولوژی را نام برد [۱۳] .

هدف از این تحقیق بررسی خواص فیزیکوشیمیایی غشای ارغوانی جداسازی، و خالص شده از باکتری *هالوباکتریم سالیناروم* بومی است که از دریاچهٔ نمک قم جداسازی شده است.

## مواد و روش‌ها

### جداسازی و شناسایی باکتری *هالوباکتریم سالیناروم*

برای جداسازی این باکتری، از مناطق شور ایران شامل دریاچهٔ نمک در استان قم و دریاچهٔ نمک مهارلو در استان فارس نمونه‌برداری شد. روش‌های به‌کار رفته برای جداسازی و شناسایی این باکتری به‌طور کامل و دقیق در مقاله‌ای که قبلاً به چاپ رسیده است، شرح داه شده است [۱۰].

### جداسازی غشای ارغوانی *هالوباکتریم سالیناروم*

روش استفاده شده برای جداسازی غشای ارغوانی[۳] (PM) باکتری *هالوباکتریم سالیناروم* روش یاسل[۴] و همکاران

۱. Bacteriorhodopsin ۲. Halorhodopsin ۳. Purple Membrane ۴. Yucel



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

(۱۹۹۵) است که مراحل این روش بدین‌صورت است:

ابتدا برای تهیهٔ پیش کشت کلنی‌های باکتری از محیط[۱] HM با ترکیب زیر در یک لیتر آب مقطر ساخته شد:

۵ گرم گازآمینواسید، عصارهٔ مخمر ۵ گرم، تری‌سدیم سیترات ۳ گرم، $MgSO_4$ ۲۰ گرم، KCl ۲ گرم، NaCl ۲۵۰ گرم، $FeCl_2.4H_2O$ ۳۶ میلی‌گرم، $MnCl_2.4H_2O$ ۲۶ میلی‌گرم. سپس کلنی‌های خالص از کشت باکتری به‌داخل ارلن‌ها تلقیح گردید. ارلن‌ها روی شیکر با دور rpm ۱۰۰ و همزمان با نوردهی به مدت ۳ روز قرار گرفتند [۹]. محتوای ارلن‌های پیش کشت سانتریفوژ شده و رسوب حاصل در پایهٔ نمکی HM محلول وارد شد. به‌طور همزمان چهار ارلن ۲۰۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد و در هر یك مقدار ۱۰۰۰ میلی‌لیتر محیط HM اضافه شد. ارلن‌ها روی شیکر با دور rpm ۱۰۰ و تحت نوردهی (۱۰۰ وات) قرار گرفتند. پس از گذشت ۱۰ روز محتوای ۴ ارلن ۲۰۰۰ میلی‌لیتری با دور rpm ۴۰۰۰ به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای °C۴ سانتریفوژ شدند. به سوسپانسیون باکتریایی حاصل (۱۰۰۰ ml) از این مرحله مقدار ۱۰۰µl از DNase با واحد ۱۰۰۰U اضافه شد و سپس با NaCl ۰/۱ مولار دیالیز شد. عمل دیالیز به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای °C۴ انجام شد. پس از اتمام مرحلهٔ دیالیز محتویات آن درون لوله سانتریفوژ ریخته شد و سانتریفوژ در دور rpm۴۵۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در °C۴ انجام شد. رسوب حاصل از سانتریفوژ دور ریخته شد و سوپرناتانت حاصل از این مرحله درون لوله‌های سانتریفوژ ریخته شد و در دور rpm۱۹۰۰۰ به‌مدت ۹۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس رسوب ارغوانی حاصل جمع‌آوری شد و سوپرناتانت دور ریخته شد. رسوب حاصل در NaCl ۰/۱ مولار حل گردید و سانتریفوژ دوم در دور rpm۱۹۰۰۰ به‌مدت ۹۰ دقیقه تکرار شد. پس از این مرحله رسوب حاصل که اصولاً باید حاوی باکتریورودوپسین باشد در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل گردید و تا زمان استفاده در °C۲۰- نگهداری شد [۱۱].

**بررسی‌های جذب اسپکتروسکوپی باکتریورودوپسین و اثبات خلوص**

غشای ارغوانی (PM) در nm ۵۶۰ دارای ماکزیمم جذب است. باکتریوروبرین قرمز که مهم‌ترین آلودگی PM محسوب می‌شود دارای جذب در نواحی nm ۴۹۸ و nm ۴۷۰ است. حضور پیک‌های ناخواسته در nm ۵۶۰ دلالت بر وجود باکتریوروبرین قرمز رنگ همراه با باکتریورودوپسین است. مورد دیگری که در بررسی‌های جذب نوری باید به آن توجه کرد نسبت جذب nm ۲۸۰/۵۶۰ است که هر چه این نسبت کم‌تر باشد خلوص باکتریورودوپسین بیش‌تر و آلودگی با سایر پروتئین‌ها کم‌تر است [۳]، [۴].

جذب نوری غشای ارغوانی خالص شده در nm۲۸۰، nm۴۹۸، nm۴۷۰ و nm۵۶۰ به‌کمك دستگاه اسپکتروسکوپی (نوع UV-Visible مدل Shimadzu) اندازه‌گیری شد.

۱. Halophil Medium



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

**بررسی فعالیت غشای ارغوانی**

برای اثبات فعالیت غشای ارغوانی (PM) فعالیت تغییر pH آن بررسی شد. از آن‌جایی که غشای ارغوانی یك پمپ پروتونی مشتق از نور است بنا بر این می‌تواند به‌کمك نور باعث انتقال پروتون به‌خارج از فضای سلول گردد و حضور یون‌های پروتون ($H^+$) در محلول موجب کاهش pH می‌گردد.

برای بررسی فعالیت ابتدا دو ارلن ۵۰ میلی‌لیتری با این محتوا تهیه شد:

(شاهد) 80mM $MgCl_2$ + 3M KCl

(آزمایش) PM + 80mM $MgCl_2$ + 3M kCl

pH اولیهٔ هر دو ارلن با محلول‌های KOH و HCl در ۶/۸۵-۷/۲ تنظیم شد. با دور بسیار کم به گردش در آمدند طوری که فقط محلول حرکت کمی داشته باشد و ایجاد رسوب جلوگیری شود. دو چراغ مطالعه با لامپ ۲۰۰ وات و یك پنکه نیز در کنار لامپ‌ها در فاصلهٔ ۳۰ سانتی‌متری از ارلن‌ها نصب گردید. دمای آزمایش باید در ۳۰°C ثابت بماند و وجود لامپ‌ها تولید گرما کند. pH اولیهٔ هر دو ارلن در ابتدا ثبت گردید و سپس هر ۶ ساعت یك بار pH هر دو ارلن (شاهد و نمونه مورد آزمایش) به‌کمك دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد و این عمل تا ۴۸ ساعت ادامه یافت [ ۱۴]، [۱۷].

**اندازه گیری جذب امواج میکروویو توسط غشای ارغوانی**

به‌کمک دستگاه اشعه‌دهی امواج میکروویو میزان جذب این امواج توسط غشای ارغوانی اندازه‌گیری شد. مشخصات محفظهٔ نمونه استفاده شده (کاواک) بدین‌صورت است:

۲۲/۹ میلی‌مترطول، ۱۰ میلی‌متر عرض و ۳۱ میلی‌متری ارتفاع و گنجایش آن برابر ۸ میلی‌لیتر است. نمونهٔ شاهد در آزمایش‌های جذب آب مقطر است و کالیبراسیون نیز با آن صورت پذیرفت. نحوهٔ اشعه‌دهی بدین صورت است که دامنهٔ امواج بین ۸ تا ۱۲ گیگا هرتز به‌کار گرفته شد و مدت زمان اشعه‌دهی برای هر نمونه ۱۵ دقیقه است [۱۹].

## نتایج

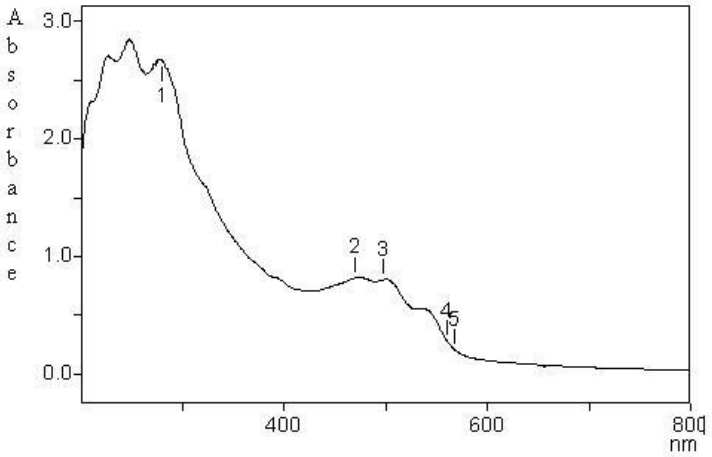
**جذب غشای به دست آمده قبل از انجام دیالیز**

پس از این‌که باکتری‌ها از حجم ۴ لیترمحیط کشت رسوب یافتند و در داخل محلول پایهٔ نمکی سوسپانسیون شدند، جذب نوری آن‌ها قبل از انجام دیالیز اندازه‌گیری شد. شکل ۱ طیف جذبی این سوسپانسیون را نشان می‌دهد و در زیر شکل نواحی مشخص مقدار جذب آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان پروتئین کل سلولی (جذب در ۲۸۰nm) بالا است و نیز جذب غشاها (باکتریورودوپسین و باکتریوروبرین) پایین است که امری طبیعی است زیرا هنوز سلول‌ها لیز نشده‌اند و غشای آن‌ها دست نخورده است. از طرفی نسبت جذب ۲۸۰/۵۶۰ که



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

به‌عنوان یك شاخص برایاثبات خلوص است. در نمونه‌های قبل از دیالیز برابر ۹/۵ است که نشان‌دهندهٔ درصد زیاد باکتریوروبرین نسبت به باکتریورودوپسین است.




| ناحیه | طول موج | جذب |
|---|---|---|
| ۱ | ۲۸۰ nm | ۲/۶۷ |
| ۲ | ۴۷۰ nm | ۰/۸۱ |
| ۳ | ۴۹۸ nm | ۰/۸۱ |
| ۴ | ۵۶۰ nm | ۰/۲۸ |
| ۵ | ۵۶۷ nm | ۰/۲۱ |

**شکل ۱. جذب غشا به‌دست آمده بعد از سانتریفوژ اول و قبل از انجام دیالیز**

**جذب غشای ارغوانی خالص شده**

رسوب حاصل از سانتریفوژ مرحلهٔ دوم نمونهٔ اصلی غشای ارغوانی بود که بررسی‌های بعدی روی آن صورت گرفت. شکل ۲ طیف جذبی نمونهٔ اصلی را نشان می‌دهد که در آن مقدار جذب غشای ارغوانی افزایش یافته است با وجود این که هنوز دارای شاخه‌های جانبی باکتریوروبرین قرمز رنگ است.

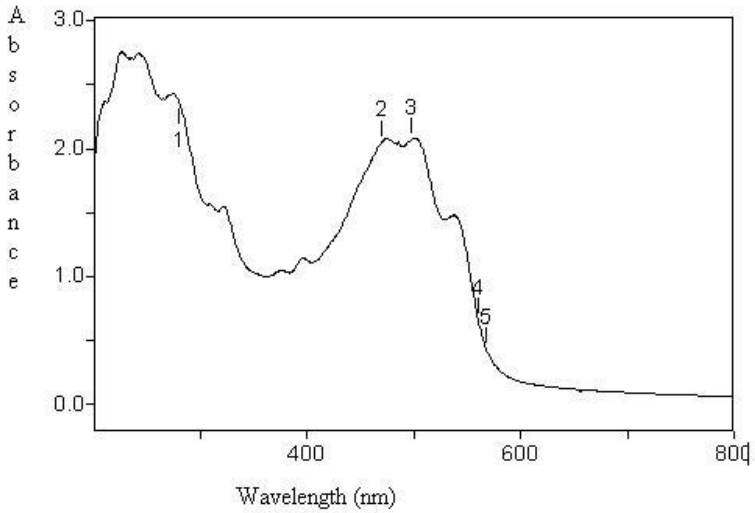
نسبت جذب ۲۸۰/۵۶۰ در این طیف برابر ۳/۳ است که اگر این عدد را با عدد به‌دست آمده از طیف جذبی اولیه (۹/۵) مقایسه کنیم نشان‌دهندهٔ کاهش ۶/۲ واحدی طیف جذبی است که دلیلی بر خلوص بالا و جدا شدن سایر پروتئین‌های سلولی و همچنین باکتریوروبرین قرمز از باکتریورودوپسین (PM) است، زیرا هر چه این عدد کم‌تر باشد خلوص باکتریورودوپسین بیش‌تر است.

**اثبات فعالیت PM استخراج شده با استفاده از تغییر pH**

شکل ۳ فعالیت PM را با کاهش pH نشان می‌دهد. چنان‌که در شکل مشاهده می‌شود به‌ازای هر ۶ ساعت مقدار ۰/۱۵ واحد کاهش pH در سوسپانسیون دیده می‌شود، به‌عبارت دیگر به‌ازای هر ساعت ۰/۰۲۵ واحد در pH سوسپانسیون کاهش وجود دارد که دلیلی بر فعالیت باکتریورودوپسین استخراج شده دارد.

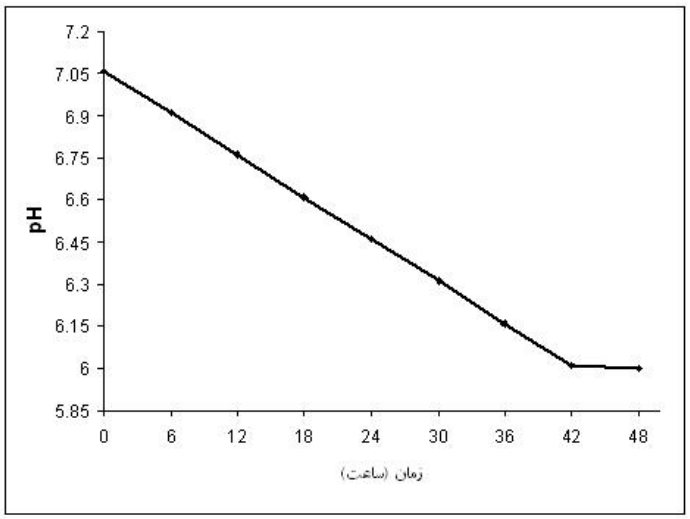


[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]




| ناحیه | طول موج | جذب |
|---|---|---|
| ۱ | ۲۸۰ nm | ۲/۲ |
| ۲ | ۴۷۰ nm | ۲/۰۵ |
| ۳ | ۴۹۸ nm | ۲/۰۶ |
| ۴ | ۵۶۰ nm | ۰/۶۶ |
| ۵ | ۵۶۷ nm | ۰/۴۳ |

شکل ۲. طیف جذبی غشای ارغوانی خالص شده




شکل ۳. کاهش pH در اثر فعالیت غشای ارغوانی خالص سازی شده

پس از گذشت ۴۸ ساعت سوسپانسیون PM که تحت نوردهی قرار داشت به تاریکی منتقل شد و ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت. با توجه به این که در تاریکی واکنش برگشت پروتون‌ها صورت می‌گیرد به‌طور طبیعی pH سوسپانسیون باید افزایش پیدا کند. پس از گذشت ۲۴ ساعت pH سوسپانسیون PM برابر ۶/۴ بود و با توجه



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

به این که pH سوسپانسیون قرار گرفته در روشنایی برابر ۶ است لذا pH پس از گذشت ۲۴ ساعت ۰/۴ واحد در این مدت افزایش داشته است که این دلیل دیگری بر اثبات فعالیت PM است.

## نتایج حاصل از جذب امواج میکروویو توسط PM استخراج شده

نتایج آزمایش جذب امواج میکروویو توسط PM استخراج شده با استفاده از دستگاه اشعه‌دهی میکروویو در جدول ۱ نشان داده شده است.

جذب کاواک بدون آب که نسبت به آب و محلول کالیبره شده بود اندازه گیری شد. این جذب از این رو واجد اهمیت است که باید جذب نمونه از آن کسر شود و جذب واقعی نمونه به‌دست آید. با توجه به جدول کاواک بدون آب دارای ۵dB[1] جذب است.

غشای ارغوانی استخراج شده که در آب دوبار تقطیر حل گردیده بود وارد کاواک شد و جذب امواج میکروویو در دامنهٔ بین ۸ تا ۱۲ گیگاهرتز با دستگاه سنجش جذب امواج میکروویو اندازه‌گیری شد. همان‌طور که در جدول ۱ دیده می‌شود غشای ارغوانی قادر به جذب امواج میکروویو بوده است. چنان‌چه میانگین جذب به‌دست آمده را از اختلاف جذب حاصل از کاواک بدون آب و شاهد (آب مقطر) کسر کنیم مقدار ۶dB جذب واقعی غشای ارغوانی است و از آن‌جاکه هر ۳dB برابر با ۳۰ درصد جذب است بنا بر این PM حاصل در این تحقیق قادر است که ۶۰ درصد از امواج میکروویو را جذب کند.

**جدول۱. جذب امواج میکروویو توسط غشای ارغوانی (PM) استخراج شده**

| نمونه مورد آزمایش | میزان جذب امواج میکروویو |
|---|---|
| شاهد کالیبره شده (آب مقطر) | ۲ dB |
| کاواک خالی | ۵dB |
| غشای ارغوانی | ۱۳dB |

## بحث

روش‌های گوناگونی به‌وسیله محققان مختلف برای جداسازی و خالص‌سازی غشای ارغوانی به‌کار رفته است که هریك از این روش‌ها دارای مزایا و معایبی است. اویسترهلت[2] و همکاران در سال ۱۹۹۷ از روش اولتراسانتریفوژ در گرادیان غلظتی سوکروز برای جداسازی غشای ارغوانی استفاده کردند [۵]. نئومن[3] و همکاران در سال ۱۹۹۲ از روش ژل فیلتراسیون برای جداسازی و خالص‌سازی غشای ارغوانی استفاده کردند. آن‌ها از ستون کروماتوگرافی حاوی سفاکریل S-100 برای جداسازی غشای ارغوانی از سایر قطعات همراه با آن استفاده کردند [۱۶] .

۱. Deci Bel ۲. Oesterhelt ۳. Neumann



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

روش ژل فیلتراسیون در مراحل اولیهٔ خود مشابه روش اویسترهلت است چنان‌که لیز سلولی با دیالیز صورت می‌گیرد اما پس از مراحل لیز سلولی نمونهٔ حاصل با دور rpm ۳۸۰۰۰ سانتریفوژ شده و وارد ستون ژل فیلتراسیون می‌شود.

روش به‌کار رفته برای جداسازی غشای ارغوانی در این تحقیق با اندکی تفاوت بر اساس روش یاسل[۱] و همکاران در سال ۱۹۹۵ بود [۱۱]. یوسل و همکاران برای لیز سلولی عمل دیالیز را به مدت ۳ روز در دمای ۴°C انجام دادند ولی در این تحقیق دیالیز به‌مدت ۱۶ ساعت در ۴°C انجام گرفت. همچنین یوسل و همکاران برای رسوب نهایی غشای ارغوانی از سانتریفوژ دور g ۳۲۰۰۰ به‌مدت ۹۰ دقیقه و دومرتبه استفاده کردند. ولی در تحقیق حاضر از دور g۵۰۰۰۰ به‌مدت ۶۰ دقیقه و دومرتبه استفاده شد. روش به‌کار رفته در این تحقیق دارای این مزیت بود که اولاً نیازمند تجهیزات پیچیده از قبیل اولتراسانتریفوژ و شیب غلظتی سوکروز نبوده و ثانیاً میزان غشای ارغوانی حاصل در مقایسه با روش‌های دیگر در حد قابل قبولی بود زیرا از دست رفتن آن در طی مراحل جداسازی به حداقل می‌رسید. در تحقیق حاضر PM حاصل دارای نسبت جذبی برابر ۳/۵ بود که البته نسبت به نتایج به‌دست آمده توسط اویسترهلت که از روش اولتراسانتریفوژ استفاده کرد نسبت زیادی است (۳/۵ در برابر ۱/۵). خلوص PM حاصل از این تحقیق با نتایج یاسل و همکاران (۱۹۹۵) و نئومن و همکاران (۱۹۹۲) همخوانی دارد [۱۱]،[۱۶].

کویاما[۲] و همکاران در سال ۱۹۹۷ فعالیت باکتریورودوپسین حاصل از *هالوباکتریم سالیناروم* را بررسی کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که حضور یون منیزیم در غلظت فیزیولوژیك تغییر pH القا شده با نور را افزایش می‌دهد به‌طوری‌که بدون یون منیزیم تغییر pH تقریباً بین ثانیه‌های کمی پس از نوردهی اشباع می‌شود و ۵ پروتون به ازای هر مولکول باکتریورودوپسین بیش‌تر رها نمی‌گردد [۱۷].

در این تحقیق برای بررسی فعالیت PM به‌دست آمده از محلول توصیه شده توسط کویاما و همکاران استفاده گردید. این محلول حاوی ۸۰ میلی‌مول از $MgCl_2$ و ۳ میلی‌مول از KCl است [۱۷]. PM به‌دست آمده دارای فعالیت کاهش pH بود به‌طوری‌که به ازای هر ۶ ساعت ۰/۱۵ واحد کاهش pH در محلول مشاهده گردید. این نتیجه با یافته‌های بریمن[۳] و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد با این تفاوت که آن‌ها کاهش ۰/۲ واحدی به ازای هر ۶ ساعت را مشاهده کردند [۱۸].

نکتهٔ دیگری که در مورد فعالیت PM حاصل در این تحقیق، این است که بعد از آن که سوسپانسیون حاوی PM و محلول به تاریکی منتقل شد، pH پس از ۲۴ ساعت به‌میزان ۰/۵ واحد افزایش داشت که با گزارش‌های به‌دست آمده توسط محققان دیگر از قبیل بریمن و همکاران (۲۰۰۳) و یاسل و همکاران (۱۹۹۵) همخوانی دارد [۱۱]، [۱۸].

۱. Yucel ۲. Kouyama ۳. Braiman



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

## نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که غشای ارغوانی خالص‌سازی شده در این تحقیق واجد فعالیت زیستی به‌عنوان یک پمپ پروتونی است. این غشای ارغوانی قابلیت جذب امواج میکروویو را دارد و از آن‌جاکه دارای باکتریورودوپسین است، می‌توان در طراحی نانوحفره‌ها در نانوتکنولوژی آن‌را به‌کار برد.

## قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه شهید باهنرکرمان انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه قدردانی می‌شود.

## منابع

1. A. Oren, "Molecular ecology of extremely halophilic archaea and bacteria", FEMS Microbiology Ecology, 39 (2002) 1-7.
2. B. Ozcan, C. Cokmus, A. Coleri, M. Caliskan, "Characterization of extremely halophilic archaea isolated from saline environment in different parts of Turkey", Microbiology, 75 (2006) 739-746.
3. B. Sternberg, C. A. Hostis , A. Watts, "The essential role of specific *Halobacterium halobium* polar lipids in 2D-array formation of bacteriorhodopsin", Biochemistry Biophysics Acta, 1108 (1992) 21-30.
4. C. M. Niemeyer, C. A. Mirkin, "Nanobiotechnology: Concepts, Applications and Perspectives", Wiley-vch Verlag Gmbh & Co.kgaa, Weinheim, Chapter 11 (2004) 146-166.
5. D. Oesterhelt, D. Stoeckenius, "Isolation of the cell membrane of *Halobacterium halobium* and its fractionation into red and purple membrane", Methods Enzymology, 31(1997) 667-78.
6. F. Sergiu, L. Andrea, P. Marion, G. Claudia, "Extremely halophilic archaea and the issue of long-term microbial survival", Review Environmental Science Biotechnology, 5 (2006) 203-218.
7. J. K. Lanyi," Halorhodopsin: a light-driven chloride ion pump", Annual Review of Biophysics. 15 (2004) 11-28.
8. K. L. Janos, "Bacteriorhodopsin", Annual Review of Physiology, 66 (2004) 665-88.



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]

9. M. Brian, S. Y. Becher, "Improved isolation procedures for the purple membrane of *Halobacterium halobium",* Preparative Biochemistry, 5 (2) (1975) 161-178.
10. M. Hassanshahian, J. Mohamadian, "Isolation and characterization of *Halobacterium salinarum* from saline Lakes in Iran", Jundishapur Journal of Microbiology, 4 (Supplement 1) (2011) S27-S33.
11. M. Yucel, M. Baker, T. Zabut, "Kinetic analysis of light induced proton dissociation and association of bacteriorhodopsin in purple membrane fragments under continuous illumination, Journal of Membrane Science, 104 (1995) 65-72.
12. N. A. Hampp, "Bacteriorhodopsin: mutating a biomaterial into an optoelectronic material", Applied Microbiology and Biotechnology, 53 (2000) 633-639.
13. R. Margesin, F. schinner, "Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology", Extremophiles, 5 (2001) 73-83.
14. R. Renthal, J. K. Lanyi, "Light-induced membrane potential and pH gradient in *Halobacterium halobium* envelope vesicles", Biochemistry, 15 (1976) 2136-2143.
15. S. Bickel-Sandkötter, W. Gärtner and M. Dane, "Conversion of energy in halobacteria: ATP synthesis and phototaxis", Archive of Microbiology, 166 (1996) 1-11.
16. S. Neumann, H. Leigeber, "Process for the preparation of purple membrane containing bacteriorhodopsin", United States Patent 5079149, (1992), 24-52.
17. T. Kouyama, A. Kouyama, A. Kegami, "Bacteriorhodopsin is a powerful light-driven proton pump", Biophysics Journal, 51(5) (1997) 839-841.
18. W. Braiman, "Infrared studies of bacteriorhodopsin", Applied and Environmental Microbiology, 47 (2003) 868-871.
19. Z. Baker, M. Kamal, G. Ufuk, T. Lemi, "Hydrogen gas production by combined systems of *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 and *Halobacterium salinarum* in a Photobioreactor", International Journal of Hydrogen Energy, 31 (2006) 553-1562.



[ Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02 ]