Nova Biologica Reperta 6(2): 268-274 (2019)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۲۶۸ الی ۲۷۴ (۱۳۹۸)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

مطالعه تغییرات محتوای پروتئینی باکتری سلریباکتر پرسیکوس SBU1 پس از مصرف فنانترن

محسن شهریاری مقدم[۱]، بهروز ابطحی[۲] و غلامحسین ابراهیمی پور[۳]

[۱]گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل؛ [۲]گروه زیست شناسی و زیست فناوری دریا و آبزیان، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران؛ [۳]گروه میکروبیولوژی و زیست فناوری میکربی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

مسئول مکاتبات: محسن شهریاری مقدم، mohsen.shahriari@uoz.ac.ir

چکیده. موجودات زنده در شرایط مختلف محیطی ژن‌های متفاوتی را بیان می‌کنند که در نتیجه آن پروتئین‌های متفاوتی سنتز می شوند. این تغییرات به دلیل آداپته شدن ارگانیسم با شرایط محیطی از قبیل حضور مواد سمی است. این مطالعه با هدف بررسی تغییرات پروتئینی ایجاد شده در باکتری *Celeribacter persicus* SBU1 جداسازی شده از جنگل‌های مانگرو خلیج نایبند در محیط حاوی فنانترن به عنوان تنها منبع کربن و انرژی انجام گرفت. برای مطالعه تغییرات ایجاد شده در محتوای پروتئینی سویه *C. persicus* SBU1، باکتری در محیط‌های کشت پایه معدنی حاوی استات سدیم به عنوان شاهد و هم‌چنین حاوی فنانترن کشت داده شد. پس از استخراج پروتئین کل، ارزیابی تغییرات ایجاد شده در محتوای پروتئینی باکتری *C. persicus* SBU1، با استفاده از الکتروفورز عمودی پروتئین‌ها جداسازی و شناسایی آنها توسط روش MALDI-TOF-TOF MS انجام شد. پس از ارزیابی تغییرات پروتئینی ایجاد شده در محتوای پروتئینی سویه SBU1، دو باند که نسبت به تیمار شاهد تغییرات بیشتری را نشان دادند (افزایش میزان بیان پروتئین) جداسازی و پروتئین‌های آنها شناسایی گردید. پروتئین‌های شناسایی شده شامل یک پروتئین کانالی و همچنین پروتئینی با عملکرد ناشناخته بود. به طور کلی نتایج این مطالعه بیانگر ایجاد تغییرات قابل توجهی در موای پروتئینی باکتری *C. persicus* SBU1 پس از مصرف فنانترن بود. افزایش میزان بیان پروتئین کانالی شناسایی شده، احتمالاً نشان دهده نقش این پروتئین در انتقال مولکول‌های فنانترن به داخل و یا خارج از سلول است.

واژه های کلیدی. تجزیه زیستی، ترکیبات آروماتیک چندحلقه ایی، جنگل مانگرو، خلیج نایبند، زیست پالایی

The identification of protein changes in *Celeribacter persicus* SBU1 after degrading phenanthrene

Mohsen Shahriari Moghadam[1], Behrooz Abtahi[2] & Gholamhossein Ebrahimipour[3]

[1]Department of Environment, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran; [2]Department of Marine Biology, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Behshti University, Tehran, Iran; [3]Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Correspondent author: Mohsen Shahriari Moghadam, mohsen.shahriari@uoz.ac.ir

Abstract. Organisms in different environmental conditions express different genes, which result in different protein expressions. These changes result from the adaptation of the organism to environmental conditions such as the presence of toxic substances. This study aimed to investigate the changes in protein expression in *Celeribacter persicus* SBU1 isolated from Nayband Bay mangrove forests, cultured in the medium containing phenanthrene as the sole source of carbon and energy. For this purpose, *C. persicus* SBU1 was cultured on mineral salt medium containing phenanthrene and sodium acetate as treatment and control, respectively. After the extraction of total protein, changes in protein expression were evaluated by SDS-PAGE. Proteins were identified by MALDI-TOF-TOF MS. After evaluating changes in protein content, two bands which showed greater variation in comparison with the control treatment (increased protein expression) were detected. The identified proteins included one ligand-gated channel protein and one unknown protein. In general, the results of this study showed significant changes in the protein content of *C. persicus* SBU1 after using phenanthrene. The up-regulation of ligand-gated channel protein signified the role of this protein in

Received 19.01.2018/ Revised 22.09.2018/ Accepted 03.10.2018/ Published 01.08.2019

دریافت ۱۳۹۶/۱۰/۲۹/ اصلاح ۱۳۹۷/۰۶/۳۱/ پذیرش ۱۳۹۷/۰۷/۱۱/انتشار ۱۳۹۸/۰۵/۱۰

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.12.9]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.268]

phenanthrene molecules transport in and out of the cells.

Keywords. biodegradation, bioremediation, mangrove forest, Nayband Bay, polycyclic aromatic hydrocarbons

مقدمه

هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) گروهی از ماکرومولکول-ها هستند که سمیت بالایی داشته و دارای خواص جهش‌زا، تراتوژنی و سرطان‌زایی هستند. در دهه‌های اخیر به دلیل فعالیت‌های مختلف انسانی این ترکیبات وارد محیط زیست شده و در مناطق مختلفی از قبیل آب‌های سطحی، خاک، رسوبات و آب‌های زیرزمینی سنجش شده‌اند (Qin *et al.*, 2017). اگرچه PAHs در محیط دستخوش پدیده‌های مختلفی از قبیل جذب، تبخیر، تجزیه نوری و شیمیایی می‌شوند، تجزیه زیستی مهم‌ترین روش تجزیه این ترکیبات است. مطالعاتی که در زمینه استفاده از میکروارگانیسم‌ها در زیست‌پالایی توسط محققین مختلف انجام شده است، نشان داده است این روش نسبت به دیگر روش‌ها ارزان‌تر و کارآمدتر است (Ugochukwu & Fialips 2017; Yuan *et al.*, 2001). شناسایی تعداد زیادی از باکتری‌ها با توانایی تجزیه زیستی PAHs، منجر به توسعه تکنولوژی زیست‌پالایی شده و این فناوری تبدیل به روشی رایج و کارآمد در تصفیه مناطق آلوده به PAHs شده است. هم‌چنین مطالعاتی نیز در مورد استفاده از باکتری‌های خالص شده از جنگل-های مانگرو جهت تجزیه زیستی PAHs انجام شده است (Chang *et al.*, 2008; Guo *et al.*, 2005; Ke *et al.*, 2003; Li *et al.* 2010; Tam *et al.*, 2002; Tian *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2008).

بدن موجودات زنده در شرایط مختلف محیطی ژن‌های مختلفی را بیان می‌کنند که در نتیجه آن پروتئین‌های متفاوتی نیز تولید می-شود. این تغییرات می‌تواند به دلیل آداپته شدن ارگانیسم با شرایط محیطی از قبیل حضور مواد سمی باشد (Kim *et al.*, 2004). آنزیم‌ها و پروتئین‌های مختلفی در تجزیه زیستی PAHs دخیل هستند و این آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تنها زمانی یافت می‌شوند که سویه‌ها در محیط‌های حاوی این ترکیبات قرار می گیرند. امروزه مطالعات پروتئینی و متابولومیکسی در میکروبیولوژی محیطی و به-ویژه در زمینه تجزیه زیستی و زیست‌پالایی اهمیت ویژه‌ای یافته و استفاده از آن رو به گسترش است (Keum *et al.*, 2008; Nesatyy & Suter 2007). مطالعه تغییرات ایجاد شده در محتوای پروتئینی میکروارگانیسم‌ها پس از قرار گرفتن در معرض آلاینده‌های هیدروکربنی رویکردی جدید بوده و مطالعات محدودی در این زمینه صورت گرفته است، از مطالعات پروتئومیکسی انجام شده بر روی سویه‌های تجزیه کننده PAHs می‌توان به مطالعات انجام شده روی *Mycobacterium* sp. KMS و *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 اشاره کرد (Liang *et al.*, 2006; Yun *et al.*, 2014) با شناسایی تغییرات پروتئینی ایجاد شده در باکتری‌های قرار گرفته در معرض PAHs می‌توان به درک بهتری در زمینه مکانیسم‌های مصرف PAHs توسط باکتری‌ها رسید. این امر موجبات افزایش کارایی آنها به عنوان تجزیه کننده را فراهم می کند (Wei *et al.*, 2017).

جنگل‌های مانگرو در ۶۰ تا ۷۵ درصد مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری وجود دارند و نقش مهمی را در محیط پیرامون ایفا می کنند. این اکوسیستم در تغذیه و تولید مثل بسیاری از جانوران دریایی اهمیت داشته و از جمله مناطق حساس ساحلی بوده و نیازمند حفاظت جدی هستند. بستر جنگل‌های مانگرو گلی و غنی از مواد آلی است، در نتیجه مکان مناسبی برای انباشته شدن آلاینده‌های آلی و به موجب آن رشد میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده آنها است. فنانترن یکی از ۱۶ ترکیب شناخته شده PAHs بوده و توسط آژانس حفاظت از محیط زیست معرفی شده است. این ترکیب در بسیاری از مطالعات به عنوان ترکیب مدل مطالعه شده است. باتوجه به آنکه تاکنون مطالعه‌ای در مورد تغییرات ایجاد شده محتوای پروتئینی باکتری‌های تجزیه کننده PAHs در ایران صورت نگرفته است، این مطالعه با هدف بررسی تغییرات پروتئینی ایجاد شده در باکتری SBU1 *Celeribacter persicus* جداسازی شده از جنگل‌های مانگرو خلیج نایبند در محیط حاوی فنانترن به عنوان تنها منبع کربن و انرژی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه سویه باکتری

باکتری SBU1 *Celeribacter persicus* جداسازی شده از رسوبات جنگل‌های مانگرو خلیج نایبند، از آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی دانشگاه شهید بهشتی تهران تهیه گردید.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.12.9]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.268]

سویه تهیه شده در ارلن های شیاردار حاوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث روی انکوباتور شیکردار با تواتر rpm ۱۴۰ و دمای ۳۵ درجه سانتیگراد گرماگذاری شد. پس از رشد، باکتری‌ها با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار Hermle Z323K رسوب داده شدند و از آنها جهت تلقیح محیط‌های کشت استفاده شد.

تغییرات ایجاد شده در محتوای پروتئینی باکتری *C. persicus* SBU1 در محیط کشت حاوی فنانترن

به منظور شناسایی پروتئین‌های دخیل در تجزیه زیستی فنانترن توسط باکتری *C. persicus* SBU1 از دو نوع محیط کشت استفاده گردید.

الف - محیط کشت پایه معدنی حاوی فنانترن

محیط پایه معدنی حاوی ۰/۵ گرم دی پتاسیم هیدروژن فسفات، ۱ گرم کلرید آمونیوم، ۰/۰۱ گرم سولفات آهن و همچنین ۱ میلی لیتر محلول عناصر میکرو در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب دریای فیلتر شده (۴۰ppt) بود. محلول عناصر میکرو شامل ۷۰ میلی گرم کلرید روی، ۱۰۰ میلی گرم کلرید منگنز، ۲۰۰ میلی گرم کلرید کبالت، ۱۰۰ میلی گرم کلرید نیکل، ۲۰ میلی گرم کلرید مس II، ۵۰ میلی گرم مولیبدات سدیم، ۲۶ میلی گرم سلنیت سدیم، ۱۰ میلی گرم وانادات سدیم، ۳۰ میلی گرم ولفرامات سدیم، ۱ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲۵ درصد در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر بود (Schlegel, 1992). باکتری *C. persicus* SBU1 پس از کشت در محیط نوترینت براث با کدورت نهایی OD_{600nm} ۰/۲ به محیط-های پایه معدنی حاوی $mg.l^{-1}$ ۱۰۰۰ فنانترن تلقیح گردید. سپس ارلن‌ها به مدت یک هفته در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد با دور شیکر rpm ۱۴۰ گرماگذاری شدند. پس از پایان زمان انکوباسون باکتری‌ها بوسیله سانتریفیوژ یخچال‌دار دور ۸۰۰۰ به مدت ۱۵دقیقه رسوب داده شدند. سپس باکتری ها دو مرتبه توسط آب دریاپاستریل شسته، و به محیط‌های کشت پایه معدنی جدید حاوی $mg.l^{-1}$ ۱۰۰۰ فنانترن (جهت مطالعه تغییرات پروتئینی) تلقیح شدند. سپس ارلن‌ها به مدت یک هفته در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد با دور شیکر rpm ۱۴۰ گرماگذاری شدند. در پایان دوره انکوباسیون باکتری‌ها با سانتریفیوژ یخچالدار رسوب داده، و از آنها برای مطالعه تغییرات پروتینی ایجاد شده در باکتری *C. persicus* SBU1 پس از مصرف فنانترن استفاده شد.

ب- محیط کشت پایه معدنی حاوی استات سدیم

باکتری *C. persicus* SBU1 مطابق روش ذکر شده در بخش الف کشت و سپس به محیط کشت پایه معدنی حاوی $g.l^{-1}$ ۱۰ استات سدیم به عنوان تنها منبع کربن اضافه شدند. سپس ارلن‌ها به مدت یک هفته در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد با دور شیکر rpm ۱۴۰ گرماگذاری شدند. پس از پایان زمان انکوباسون باکتری‌ها توسط سانتریفیوژ با دور g ۸۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه رسوب داده شدند. سپس باکتری‌ها دو مرتبه توسط آب دریا استریل شسته شده و به محیط‌های کشت پایه معدنی جدید حاوی استات سدیم با غلظت $g.l^{-1}$ ۱۰ تلقیح شدند. سپس ارلن‌ها به مدت یک هفته در دمای ۳۵درجه سانتیگراد با دور شیکر rpm ۱۴۰ گرماگذاری شدند، در پایان دوره انکوباسیون باکتری ها توسط سانتریفیوژ یخچالدار رسوب و از آنها به عنوان شاهد برای مطالعه تغییرات پروتینی ایجاد شده در باکتری *C. persicus* SBU1 پس از مصرف فنانترن استفاده شد.

استخراج پروتئین

استخراج کل محتوای پروتئینی با استفاده از Trizol® Reagent انجام شد. mg ۱۰۰ باکتری به ml ۱ محلول TRIzol Reagent اضافه و سپس هموژنیزه کردن باکتری‌ها انجام شد. پس از رسوب RNA و DNA پروتئین‌ها با اضافه کردن ایزوپروپیل الکل و سانتریفیوژ رسوب داده شدند. پروتئین‌های رسوب داده شده توسط محلول حاوی گوانیدین هیدروکلریک M ۰/۳ در اتانول ۹۵٪ سه مرتبه شستشو و سپس توسط سانتریفیوژ رسوب داده شدند.

غلظت سنجی پروتئین

غلظت سنجی نمونه‌ها با استفاده از آزمون بردفورد انجام شد. برای انجام این آزمون از پودر آلبومین سرم گاوی (BSA) و محلول بردفورد (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) محلول-های استاندارد پروتئینی با غلظت مشخص تهیه و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج nm ۵۹۵ تعیین غلظت شدند (Bradford, 1976).

الکتروفورز نمونه‌های پروتئینی

ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید ۱۵٪ با استفاده از جدول استاندارد ساخته شدند. قالب ژل با ابعاد cm ۱۵× ۱۵ و اسپیسر ۱mm استفاده شد. الکتروفورز با ولتاژ اولیه ۷۰ ولت تا زمان گذشتن نمونه‌ها از ژل استکینگ و ولتاژ نهایی ۱۰۰ ولت (BioRad) انجام گردید. µg ۲۵ از هر تیمار پس از مخلوط شدن با بافر نمونه بر روی ژل

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.12.9]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.268]

الکتروفورز شدند و از Thermo Scientific PageRuler Plus Prestained Protein Ladder جهت تعیین وزن مولکولی پروتئین‌ها بر روی ژل استفاده شد. برای رنگ‌آمیزی ژل، در رنگ کوماسی‌بلو غوطه‌ور شده و به مدت ۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد. سپس مرحله‌ی رنگ‌بری با استفاده از محلول آب- متانول- اسید استیک بر روی شیکر انجام شد.

شناسایی پروتئین ها

به منظور شناسایی به وسیله طیف سنج جرمی، باند های مورد نظر از ژلهای رنگ آمیزی شده جدا شدند. باندهای پروتئینی جداشده سه بار با آب خالص شستشو و سپس برای تجزیه توسط طیف سنج جرمی MALDI-TOF-TOF MS به دانشگاه یورک انگلستان فرستاده شدند. داده‌های حاصل از طیف سنج جرمی با استفاده از نرم افزار MASCOT و بانک اطلاعاتی NCBI مورد آنالیز قرار گرفتند.

نتایج

نتایج الکتروفورز پروتئینها بر روی ژل

پس از انجام الکتروفورز پروتئین‌های استخراج شده از نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با فنانترن، نتایج نشان داد محتوای پروتئینی سویه تیمار شده نسبت به شاهد تفاوت شایان توجهی دارد. عکس ژل و تغییرات پروتئینی مشاهده شده در شکل۱ آورده شده است. از میان تغییرات مشاهده دو باند پروتئینی که نسبت به شاهد شاخص تر بودند جهت شناسایی پروتئین ها از روی ژل جدا شدند.

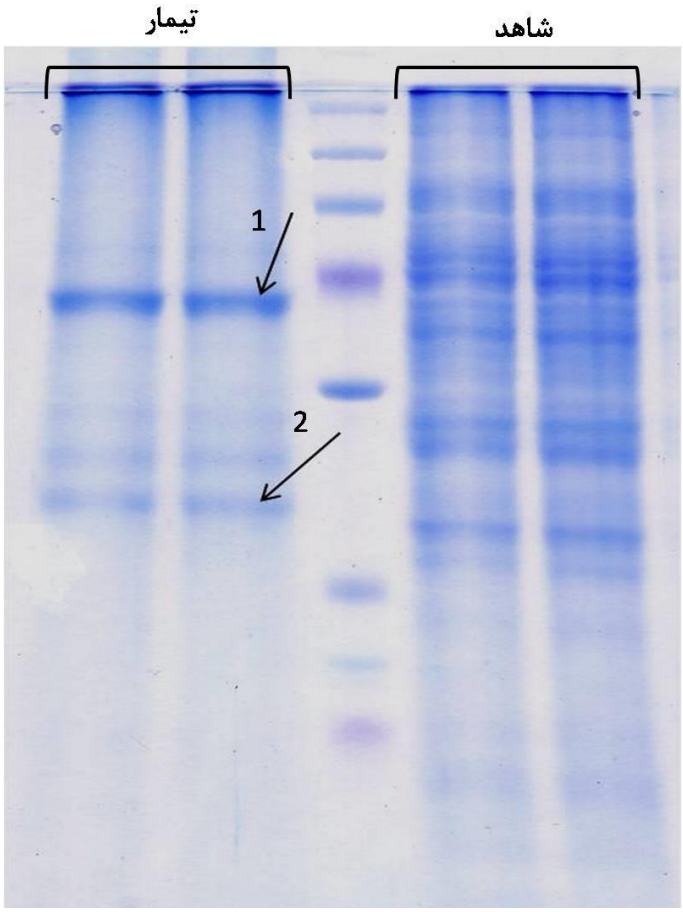
پروتئین های شناسایی شده

باندهای پروتئینی آنالیز شده توسط طیف سنج جرمی MS MALDI-TOF-TOF و آنالیز داده‌های حاصل از طیف سنج جرمی با استفاده از موتور جستجوگر MASCOT و بانک اطلاعاتی NCBI در جدول ۱ آورده شده است.

بحث

مسیرهای کاتابولیکی PAHs در باکتری‌ها پیچیده بوده و آنزیم-های مختلفی در آن دخیل هستند. تغییرات مختلفی در باکتری‌ها پس از قرار گرفتن در معرض این مواد ایجاد می‌شود که از مهم‌ترین آنها می‌توان افزایش بیان ژن‌های مرتبط با کاتابولیسم PAH، خارج کردن اکسیژن فعال، تولید ATP، انواع انتقال دهنده‌ها، پلی فسفات‌ها و ذخیره انرژی و... اشاره کرد (Seo *et al.*, 2009). سویه های مختلفی تا کنون در این زمینه مطالعه شده است که از آنها می‌توان به مطالعات انجام شده روی *Brevibacillus brevis*، *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 (Kim *et al.*, 2004)، Mycobacterium sp. JS14 (Lee *et al.*, 2007)، Maycobacterium sp. strain 6PY1 (Krivobok *et al.*, 2003)، Sphingomonas sp. strain CHY-1 (Demaneche *et al.*, 2004) اشاره کرد. در مطالعه حاضر از سویه *C. persicus* SBU1 جداسازی شده از جنگل‌های مانگرو خلیج نایبند استفاده شد. از مطالعات انجام شده در مورد تجزیه زیستی PAHs توسط این سرده می‌توان به تجزیه زیستی فلورانتن توسط *Celeribacter indicus* P73 (Cao *et al.*, 2015) اشاره کرد. پس از استخراج پروتئین‌های باکتری *C. persicus* SBU1 کشت داده شده در محیط حاوی فنانترن به‌عنوان تنها منبع کربن و محیط حاوی استات به عنوان شاهد، رنگ آمیزی ژل‌ها نشان داد، باندهایی که نسبت به تیمار شاهد تغییرات بیشتری را نشان می‌دادند (افزایش میزان پروتئین) جداسازی و پروتئین‌های آنها شناسایی گردید. نتایج نشان داد باند شماره ۱ پروتئینی کانالی است در حالی که باند شماره ۲ پروتئینی با عملکرد نامشخص است. ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای دارای مقادیر بالای Kow (octanol/water partition coefficients) بوده، بنابراین به آسانی در فاز آلی قرار می‌گیرند، در نتیجه با توجه به قرار داشتن فسفولیپیدها در غشاء سلولی محلی برای تجمع مواد آبگریز از قبیل آلکان‌ها و ترکیبات حلقوی فراهم می‌شود (Sikkema de Bont & Poolman, 1994; White *et al.*, 1981). انتقال مواد آبگریز به داخل سلول می‌تواند به روش فعال و یا غیر فعال انجام شود. بیان شده‌است که n-hexadecane به طریق فعال به داخل سلول وارد می‌شود (Finnerty & Singer, 1985). مطالعات محدودی هم در مورد انتقال نفتالین به داخل سلول انجام شده است، به عنوان مثال ذکر شده است که نفتالین به صورت غیر فعال وارد سلول می‌شود (Bateman *et al.*, 1986) در حالی که در گزارش دیگری آمده است که نفتالین از طریق انتقال فعال وارد سویه *Pseudomonas flurescense* Uper1 می‌شود (Whitman *et al.*, 1998). نتایج مطالعات انجام شده دیگری نیز نشان داد که *P. fluorescens* LP6a به صورت غیر فعال فنانترن را از محیط جذب و به صورت فعال توسط پمپ‌های غشایی فنانترن اضافی را خارج و غلظت فنانترن داخل سلولی را تنظیم می‌کند (Bugg *et al.*, 2000). این محققین بیان کردند که نقش انتقال فعال

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.12.9]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.268]



شکل ۱- SDS-PAGE رنگ آمیزی شده با کوماسی بریلینت بلو برای نمونه شاهد (دارای استات به عنوان تنها منبع کربن و انرژی) و تیمار (دارای فنانترن به عنوان تنها منبع کربن و انرژی). پروتئین های موجود در باند های نشان گذاری شده شناسایی شدند.

Fig. 1. SDS-PAGE stained by Coomassie Brilliant Blue for the control sample (acetate as the only source of carbon and energy) and the treatment sample (phenanthrene as the sole source of carbon and energy). Proteins in the labeled bands were identified.

جدول ۱- باند های پروتئینی آنالیز شده توسط طیف سنج جرمیMALDI-TOF-TOF MS.

Table 1. Protein identification by MALDI-TOF-TOF spectrometry.

شماره باند پروتئینی	نام و نوع عملکرد پروتئین	شماره ثبت/ گونه
۱	ligand-gated channel protein	gi|343805744 from Marichromatium purpuratum 984
۲	hypothetical protein HP15_3186	gi|504391294 from Marinobacter adhaerens gi|311696077 from Marinobacter adhaerens HP15

ترکیبات حلقوی به خارج از سلول در ترکیبات حلقوی کمتر محلول در آب در مقایسه با ترکیبات حلقوی مانند نفتالین که بیشتر در آب محلول هستند بیشتر است. به طور کلی efflux pumps در سلول‌ها روشی برای خارج کردن ترکیبات سمی به خارج از سلول است. اهمیت انتقال فعال مواد به خارج از سلول نقش مهمی در افزایش مقاومت باکتری به مواد سمی ایفا می‌کند. اهمیت انتقال فعال مواد به خارج از سلول در مقاومت‌های دارویی (Nikaido, 1996) و هم‌چنین باکتری‌های مقاوم به حلال‌های شیمیایی حائز اهمیت است (Sikkema & Poolman, 1994). در مطالعه حاضر، یکی از دلایل افزایش بیان پروتئین کانالی شناسایی شده می‌تواند نشان دهنده نقش این پروتئین در انتقال فنانترن به داخل و یا خارج از سلول باشد.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.12.9]
[DOI: 10.29252/nbr.6.2.268]

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد سویه *Celeribacter persicus* SBU1 قادر به تجزیه فنانترن به عنوان تنها منبع کربن و انرژی است. پس از تجزیه فنانترن توسط این سویه، تغییرات قابل توجهی در محتوای پروتئینی آن روی داد. از مهم‌ترین پروتئین‌های شناسایی شده در محتوای پروتئینی باکتری پس از مصرف فنانترن، پروتئین‌های کاتالی بودند، که بیانگر تغییرات ایجاد شده در باکتری برای انتقال فنانترن است. هم‌چنین پروتئین‌هایی جداسازی شدند که تاکنون عملکرد آنها شناسایی نشده است، ولی افزایش بیان آنها نشان‌دهنده نقش کلیدی آنها در فرایند تجزیه زیستی ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای است.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل نتایج بخشی از پایان نامه دکتری مولف اول است که بدینوسیله از حمایت مالی دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی سپاسگزاری می شود.

REFERENCE

Bateman, J.N., Speer, B., Feduik, L. and Hartline, R.A. 1986. Naphthalene association and uptake in Pseudomonas putida. – J. Bacteriol. 166: 155-161

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. – Anal. Biochem. 72: 248-254.

Bugg, T., Foght, J.M., Pickard, M.A. and Gray, M.R. 2000. Uptake and active efflux of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* LP6a. – Appl. Environ. Microbiol. 66: 5387-5392.

Cao, J., Lai, Q., Yuan, J. and Shao, Z. 2015. Genomic and metabolic analysis of fluoranthene degradation pathway in *Celeribacter indicus* P73T. – Sci. Rep. 5: 7741.

Chang, B.V., Chang, I.T. and Yuan, S.Y. 2008. Anaerobic degradation of phenanthrene and pyrene in mangrove sediment. – Bull. Environ. Contam. Toxicol. 80: 145-149.

Demaneche, S., Meyer, C., Micoud, J., Louwagie, M., Willison, J.C. and Jouanneau, Y. 2004. Identification and functional analysis of two aromatic-ring-hydroxylating dioxygenases from a *Sphingomonas* strain that degrades various polycyclic aromatic hydrocarbons. – Appl. Environ. Microbiol. 70: 6714-6725.

Finnerty, W., and Singer, M. 1985. Membranes of hydrocarbon-utilizing microorganisms. – In Ghosh, B.K. (ed.), Organization of prokaryotic cell membranes, vol. III: 1-44. – CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.

Guo, C., Zhou, H., Wong, Y. and Tam, N. 2005. Isolation of PAH-degrading bacteria from mangrove sediments and their biodegradation potential. – Mar. Pollut. Bull. 51: 1054-1061.

Ke, L., Wang, W.Q., Wong, T.W.Y., Wong, Y.S. and Tam, N.F.Y. 2003. Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. – Chemosphere 51: 25-34.

Keum, Y.S., Seo, J.S., Li, Q.X. and Kim, J.H. 2008. Comparative metabolomic analysis of *Sinorhizobium* sp. C4 during the degradation of phenanthrene. – Appl. Microbiol. Biotechnol. 80: 863-872.

Kim, S.J., Jones, R.C., Cha, C.J., Kweon, O., Edmondson, R.D. and Cerniglia, C.E. 2004. Identification of proteins induced by polycyclic aromatic hydrocarbon in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 using two-dimensional polya-crylamide gel electrophoresis and de novo sequencing methods. – Proteomics. 4: 3899-3908.

Krivobok, S., Kuony, S., Meyer, C., Louwagie, M., Willison, J.C. and Jouanneau, Y. 2003. Iden-tification of pyrene-induced proteins in *Mycobac-terium* sp. strain 6PY1: evidence for two ring-hydroxylating dioxygenases. – J. Bacteriol. 185: 3828-3841.

Lee, S.E., Seo, J.S., Keum, Y.S., Lee, K.J. and Li, Q.X. 2007. Fluoranthene metabolism and associated proteins in *Mycobacterium* sp. JS14. – Proteomics 7: 2059-2069.

Li, C.H., Wong, Y.S.,and Tam, N.F. 2010. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons with with amendment of iron (III) in mangrove sediment slurry. – Bioresour Technol. 101: 8083-8092.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.12.9]

[DOI: 10.29252/nbr.6.2.268]

Liang, Y., Gardner, D.R., Miller, C.D., Chen, D., Anderson, A.J., Weimer, B.C. and Sims, R.C. 2006. Study of biochemical pathways and enzymes involved in pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. strain KMS. – Appl. Environ. Microbiol. 72: 7821-7828.

Nesatyy, V.J. and Suter, M.J.F. 2007. Proteomics for the analysis of environmental stress responses in organisms. – Env. Sci. Tech. 41: 6891-6900.

Nikaido, H. 1996. Multidrug efflux pumps of gram-negative bacteria. – J. Bacteriol. 178: 5853-5859.

Qin, W., Zhu, Y., Fan, F., Wang, Y., Liu, X., Ding, A., and Dou, J. 2017. Biodegradation of benzo(a)pyrene by *Microbacterium* sp. strain under denitrification: Degradation pathway and effects of limiting electron acceptors or carbon source. – Biochem. Eng. J. 121: 131-138.

Schlegel, H. 1992. General microbiology. – Cambridge University Press. 608.

Seo, J.S., Keum, Y.S. and Li, Q.X. 2009. Bacterial degradation of aromatic compounds. – Int. J. Env. Res. Pub. He. 6: 278-309.

Sikkema, J., de Bont, J.A. and Poolman, B. 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. – J. Biol. Chem. 269: 8022-8028.

Tam, N.F., Guo, C.L., Yau, W.Y. and Wong, Y.S. 2002. Preliminary study on biodegradation of phenan-threne by bacteria isolated from mangrove sediments in Hong Kong. – Mar. Pollut. Bull. 45: 316-324.

Tian, Y., Liu, H.J., Zheng, T.L., Kwon, K.K., Kim, S.J. and Yan, C.L. 2008. PAHs contamination and bacterial communities in mangrove surface sediments of the Jiulong River Estuary, China. – Mar. Pollut. Bull. 57: 707-715.

Ugochukwu, U.C. and Fialips, C.I. 2017. Removal of crude oil polycyclic aromatic hydrocarbons via organoclay-microbe-oil interactions. – Chemosphere 174: 28-38.

Wei, K., Yin, H., Peng, H., Liu, Z., Lu, G. and Dang, Z. 2017. Characteristics and proteomic analysis of pyrene degradation by Brevibacillus brevis in liquid medium. – Chemosphere 178: 80-87.

White, S.H., King, G.I. and Cain, J.E. 1981. Location of hexane in lipid bilayers determined by neutron diffraction. – Nature 290: 161-163.

Whitman, B.E., Lueking, D.R. and Mihelcic, J.R. 1998. Naphthalene uptake by a *Pseudomonas fluorescens* isolate. – Can. J .Microbiol. 44: 1086-1093.

Yu, S.H., Ke, L., Wong, Y.S. and Tam, N.F.Y. 2005. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterial consortium enriched from mangrove sediments. – Environmenton 31: 149-154.

Yuan, S.Y., Chang, J.S., Yen, J.H. and Chang, B.V. 2001. Biodegradation of phenanthrene in river sediment. – Chemosphere 43: 273-278.

Yun, S.H., Choi, C.-W., Lee, S.-Y., Lee, Y.G., Kwon, J., Leem, S.H. and Kwon, K.K. 2014. Proteomic characterization of plasmid pLA1 for biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine bacterium, *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1. – PloS One 9: 1-11.

Zhou, H.W., Luan, T.G., Zou, F. and Tam, N.F.Y. 2008. Different bacterial groups for biodegradation of three- and four-ring PAHs isolated from a Hong Kong mangrove sediment. – J. Hazard Mater. 152: 1179-1185.

*****

How to cite this article:

Shahriari Moghadam, M., Abtahi, B. and Ebrahimipour, Gh. 2019. The identification of protein changes in *Celeribacter persicus* SBU1 after degrading phenanthrene. – Nova Biol. Reperta 6: 268-274.

شهریاری‌مقدم، م.، ابطحی، ب. و ابراهیمی‌پور، غ. ۱۳۹۸. مطالعه تغییرات محتوای پروتئینی باکتری سلریباکتر پرسیکوس SBU1 پس از مصرف فنانترن. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۶: ۲۷۴-۲۶۸.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1398.6.2.12.9]

[DOI: 10.29252/nbr.6.2.268]