الملخص

هدفت الدراسة الحالية إلى استخلاص اللايبيز (EC 3.1.1.3) من البنكرياس الكبدي لسرطان البحر وتنقيته ودراسة صفاته، وجمعت سرطان البحر Crab من مدينة الفاو في محافظة البصرة. استخلص الإنزيم بالمحلول الدارئ Tris – HCl بتركيز 0.02 مولاري برقم هيدروجيني 8 الحاوي على 0.1 مولاري كلوريد الصوديوم NaCl, ونقية للمستخلص بالحراةعند 60م/10د وبالمبادل الأيوني(– DEAE Sephadex A-50),ركز بكبريتات الأمونيوم 30- 70 % ثم الترشيح الهلامي Sephadex G-100 ، فكانت الحصيلة الإنزيمية 12.73 % وعدد مرات التنقية 215.14 مرة كما بلغت الفعالية النوعية 3395 وحدة/ملغم بروتين. واختبرت نقاوة الإنزيم بالترحيل الكهربائي في هلام متعدد الاكريل امايد بغياب المواد الماسخة للبروتين. وقد درست بعض صفات الإنزيم النقي وأسفرت نتائج الدراسة عما يأتي: بلغ الوزن الجزيئي للإنزيم 30100 دالتون,و pH الأمثل 8 واظهر ثباتاً بمدى من pH 7- 9 بحرارة 37 م/30 د,والحرارة المثلى له40م أما الثبات الحراري للإنزيم فقد احتفظ بكامل فعاليته عند حضنه بدرجات حرارة 25 – 35 م/30د عند pH الأمثل للثبات, معدل (Km) تجاه زيت الزيتون بلغ 0.57 ملي مولاري و معدل (Vmax) بلغ 188.4 مايكرومول/د. ثبط الانزيم بوجود Cu+2 وFe+2 عند حضن الإنزيم مع 1 و5 ملي مولاري وMn+2 بتركيز5 ملي مولاري, اما Ca+2 و Mg+2 له تأثيرا منشطاً واضحاً عند 5 ملي مولاري, تأثرت الفعالية بوجود Ca+2 وMg+2 وMn+2 بنسبة قليلة عند 1 ملي مولاري. لم تظهر المواد الكلابية والمختزلة DETA و 2- mercaptoethanol و اليوريا Urea تأثيراً في الفعالية بتركيز 1 و 5 ملي مولاري.ازادات الفعالية بوجود Tween 20 و Triton X-100 بتركيز 5 و 10 (ح/ح %) على التوالي, اما بتركيز 10 و 5 (ح/ح %) على التوالي و Tween 80 بتركيز 5 و 10(ح/ح %) وSDS بتركيز 0.1 (و/ ح %) تأثيراً مثبطاً بسيطاً. لم تتأثر الفعالية باستعمال المواد الصابونية التجارية (Sana , Cleana , Bounx , Albana) عند تركيز 0.1 ملي مولاري.

Abstract

The current study aimed to extract and purified lipase enzyme (EC 3.1.1.3) from hepatopancreas of Crab and study its properties, the hepatopancreas collected from Crab of the fishing areas of the city of Faw in Basrah province, and cut off some parts of the pancreas and nearby. The enzyme was extracted by using 0.02 M Tris – HCl buffer with pH 8 containing 0.1 M sodium chloride NaCl, crude extract was heated at 60 C /10 min., and passed the extraction by (DEAE - Sephadex A-50) chromatography, and then precipitated with ammonium sulfate by using 30 to 70% and gel filtration SephadexG-100, yield of enzyme was 12.73 % and the number of times a was 215.14 fold as activity specific 3395 units/mg protein. The enzyme exhibit one band at poly acrylamide gel electrophoresis under non denaturating conditions. Some of the characteristics of pure enzyme were study the results indicated the following: Molecular weight of enzyme 30,100 Dalton, The optimum pH of the enzyme 8 and the enzyme showed the some activity at pH 7 – 9 and a temperature of 37 C for 30 minutes,

Optimum temperature of the enzyme 40Cº and exhibit the some activity of temperature from 25 to 35 C/30 min. at the pH optimum for stability. And was (Km) 0.57 mM and (Vmax) was 188.4 µmol /min. Some of the ion Compounds inhibition the activity of lipase, in the presence of Cu+2 and Fe+2 when incubated of the enzyme with 1 and 5 mM and 5 mM Mn+2, while both of a Ca+2 and Mg+2 ions increase in the activity of the enzyme at the concentration of 5 mM, and the results showed the activity of the enzyme was also affected by the presence of Ca+2 ions, Mg+2 and manganese by a few at the concentration of 1 mM. There is no effect the chelating agents and reduction as DETA and 2-mercaptoethanol and Urea on the activity of lipase, when incubated it in 1 and 5 mM. Results showed an increase in the activity of lipase in the presence of surfactant materials such as Tween 20 and Triton X-100 at the concentration of 5 and 10 (V /V%), respectively, while the some materials at 10 and 5 (V /V%), 5 , 10 (V /V%) of Tween 80 , 0.1 (W/ V%) of SDS showed simple inhibition of lipase. Commercial detergent such as (Sana , Cleana , Bounx , Albana) at 0.1 mM was not effect on lipase acivity