Archive of SID

مطالعه پایداری ساختاری آنزیم پپسین در حضور نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن

بهزاد شارقی*، کلثوم شهدادنژاد و هما محمدی

شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم پایه، گروه بیوشیمی

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۴

چکیده

آنزیم پپسین خوک A (EC 3.4.23.1) متعلق به خانواده آسپارتیک پروتئازها است، و به صورت زیموژن که پپسینوژن نام دارد ترشح می شود، فعال‌شدن پپسینوژن در مقادیر pH بین ۱ و ۴ اتفاق می افتد. پپسین شامل یک صورتبندی دو لوبی با دو رزیدو آسپارتیک کاتالیتیکی(Asp۳۲ وAsp۲۱۵) که در دو طرف جایگاه فعال می باشد و ساختار آن غالباً صفحه بتا و رندوم کویل با مارپیچ آلفا محدود می‌باشد. پپسین پیوندهای پپتیدی بین آمینواسیدهای هیدروفوبیک و ترجیحاً آروماتیک از قبیل تریپتوفان، فنیل‌آلانین و تیروزین را هیدرولیز می‌کند. با توجه به اهمیت آنزیم پپسین به عنوان یک آنزیم صنعتی در صنایع غذایی و کاربردهای نانوذرات در صنعت اثر نانوذرات اکسید مس و اکسید روی را بر روی پایداری ساختاری پپسین بررسی گردید. این مطالعه با استفاده از بافر گلایسین–اسیدکلریدریک (۰/۱ مولار) با pH=۲ و در دامنه دمایی ۳۰۳ تا ۳۶۳ درجه کلوین انجام شد. پایداری پپسین در حضور نانوذرات اکسید روی و اکسید آهن تغییر نکرد. قدرت برهمکنش الکتروستاتیک و هیدروژنی بین آنزیم پپسین و نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن در دگرگون شدن پپسین کم بوده است.

واژه های کلیدی:پپسین، پایداری ساختاری، نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن، دگرگون شدن

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۰۹۳۷۶۴، پست الکترونیکی: b_shareghi@yahoo.com

مقدمه

فناوری نانو یکی از مدرن‌ترین فناوریهای روز دنیاست که دارای خصوصیات منحصربه‌فرد و در تمام زمینه‌های علم و فناوری کاربرد دارد(۱۰). فناوری نانو در پزشکی از جمله دارورسانی، مواد کاشتنی در بدن، جراحی، وسایل تشخیصی، درمان سرطانها کاربردهای زیادی دارد (۱۵و۱۶). اخیراً از نانوذرات مغناطیسی مانند نانوذره اکسیدروی استفاده‌های زیادی می شود برای مثال در تصویربرداری رزونانس مغناطیسی MR*I* (MagneticResonanceImaging)، افزایش دما (hyperthermia) برای درمان تومور، رساندن دارو و .... کاربرد زیادی دارند. همچنین مشخص شده است که بعضی از نانوذرات مغناطیسی مانند نانوذره اکسیدآهن، از تشکیل تجمعات آمیلوئیدی(مثلاً آمیلوئید بتای لیزوزیم) جلوگیری می کنند و یا تجمعات تشکیل‌شده آمیلوئیدی را از بین می برند و از این طریق در درمان بیماری آلزایمر مؤثر می باشند (۴). آنزیم پپسین خوک A(E ۳,۴,۲۳,۱)، متعلق به خانواده آسپارتیک پروتئازها است. پپسین به صورت زیموژن که پپسینوژن نام دارد ترشح می شود *(۱۳)*. همانند دیگر زیموژنهای آسپارتیک معده، فعال‌شدن پپسینوژن در مقادیر pH بین ۱ و ۴ اتفاق می افتد (۸). پپسین شامل یک صورتبندی دو لوبی با دو رزیدو آسپارتیک کاتالیتیکی(Asp۳۲ وAsp۲۱۵) که در دو طرف جایگاه‌فعال می‌باشد و ساختار آن غالباً صفحه بتا و رندوم کویل با مارپیچ آلفا محدود می‌باشد *(۱۴)*. پپسین پیوندهای پپتیدی بین آمینواسیدهای هیدروفوبیک و ترجیحاً آروماتیک از قبیل تریپتوفان، فنیل‌آلانین وتیروزین را هیدرولیز می کند (۵ و ۶).

www.SID.ir

Archive of SID

مواد دگرگون‌کننده پروتئین، سبب از هم گسیختن ساختمان دوم، سوم و چهارم می‌شوند بنابراین مواد دگرگون‌کننده سبب تخریب تمامی ترتیبهای ساختمان پروتئین به جز ساختمان اولیه شده و فعالیت بیولوژیک آن را از بین می-برند(۱۱). هدف اصلی از مطالعات دگرگون‌سازی پروتئینها به دست آوردن اطلاعات اضافی در مورد ساختمان، خواص و عملکرد پروتئینها است. مطالعات غیر طبیعی کردن پروتئینها در محلولهای آبی انجام می‌شود و بنابراین در درک رفتار پروتئینها تحت شرایط فیزیولوژیک مفید خواهد بود. فرایند دگرگون‌سازی پروتئینها برای مطالعه نیروهای تعیین‌کننده ساختمان سوم حائز اهمیت است. استفاده دیگر از مطالعات دگرگون‌سازی مطالعه نیروهای مؤثر و نقش انواع میان‌کنش‌ها در جایگاه‌فعال آنزیم است(۷).

با توجه به اهمیت آنزیم پپسین به عنوان یک آنزیم صنعتی در صنایع غذایی از جمله تهیه پنیر، نوشابه و در چاشنیهای غذایی، و همچنین کاربردهای نانوذرات در صنعت، در این تحقیق پایداری دمایی پپسین در حضور نانوذرات اکسید روی و اکسیدآهن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

در این مطالعه از آنزیم پپسین *خوک* (محصول شرکت سیگما) ، بافر گلایسین–اسیدکلریدریک با pH=۲ در غلظت ۰/۱ مولار و نانوذرات اکسیدروی(اندازه۱۴–۱۰نانومتر) و اکسیدآهن(اندازه۱۰نانومتر) (محصولات شرکت سیگما) و از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل فارماسیا–۴۰۰۰، جهت اندازه گیری استفاده شده است.

بررسی پایداری حرارتی آنزیم پپسین در حضور غلظتهای مختلف نانوذره اکسیدروی در دامنه حرارتی ۳۰۳ تا ۳۶۳ درجه کلوین: از بافر گلایسین–اسیدکلریدریک با pH= ۲ درغلظت ۰/۱ مولار و غلظتهای مختلف نانوذره اکسید روی(۰ تا ۶/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده شد. منحنیهای دگرگون سازی در حضور نانوذره اکسید روی در طول موج ۲۸۰ نانومتر با استفاده از محلولهای پپسین با غلظت ۰/۱۳۸ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمده است.

بررسی پایداری حرارتی آنزیم پپسین در حضور غلظتهای مختلف نانوذره اکسیدآهن در دامنه حرارتی ۳۰۳ تا ۳۶۳ درجه کلوین: از بافر گلایسین–اسیدکلریدریک با pH= ۲ درغلظت ۰/۱ مولار و غلظتهای مختلف نانوذره اکسید آهن(۰ تا ۰/۷میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده شد. منحنیهای دگرگون سازی در حضور نانوذره اکسید آهن در طول موج ۲۸۰ نانومتر با استفاده از محلولهای پپسین با غلظت ۰/۱۳۸ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمده است.

نتایج و بحث

پایداری حرارتی آنزیم پپسین با اندازه‌گیری تغییرات انرژی آزاد گیبس و T_mمحاسبه می گردد. برای این هدف با تغییر آنزیم از حالت طبیعی به حالت دگرگون‌شده، کسر دگرگون‌سازی بصورت زیر محاسبه می‌شود:

$$F_U=(A_N-A)/(A_N-A_U) \qquad (۱)$$

در این رابطه، A_N، جذب در حالت طبیعی، A، جذب مشاهده شده و A_U، جذب در حالت دگرگون‌شده می باشند K_{eq} یا ثابت تعادل از رابطه زیر بدست می آید:

$$K_{eq}=F_U/(1-F_U)=(A_N-A)/(A-A_U) \qquad (۲)$$

تغییرات انرژی آزاد گیبس نیز از این رابطه محاسبه می‌شود:

$$\Delta G°=-RT\ln K_{eq}=-RT\ln[F_U/(1-F_U)]=-RT\ln[(A_N-A)/(A-A_U)] \qquad (۳)$$

در این رابطه، R، ثابت گازها می باشد و برابر با ۸/۳۱۴ است و T، دما بر حسب کلوین می باشد.

T_mیا دمای ذوب یک آنزیم، دمایی است که در آن $\Delta G°$برابر با صفر است.

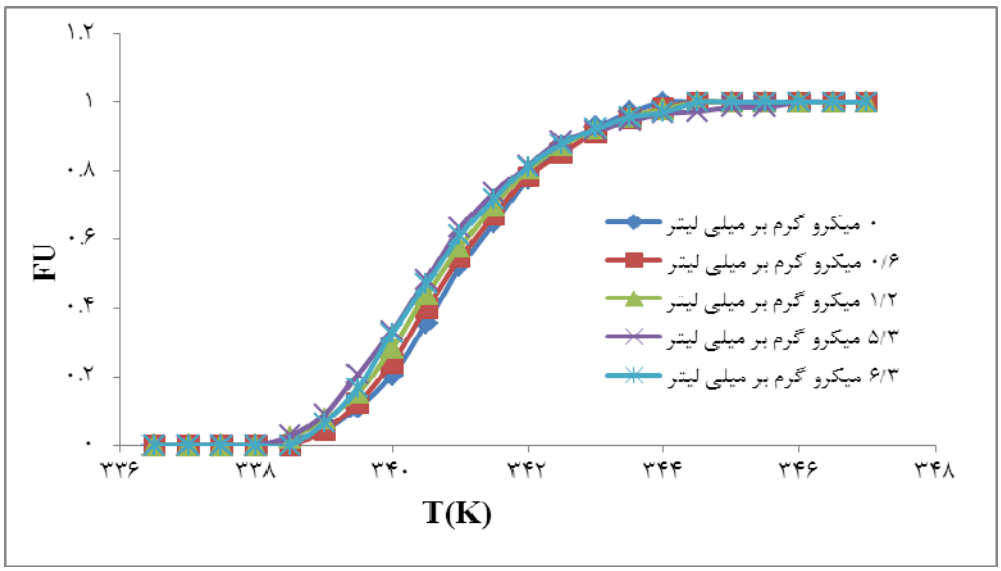
نمودارهای ۱ و ۲ تغییرات کسر دگرگون‌سازی علیه دما در غلظتهای مختلف نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن در

www.SID.ir

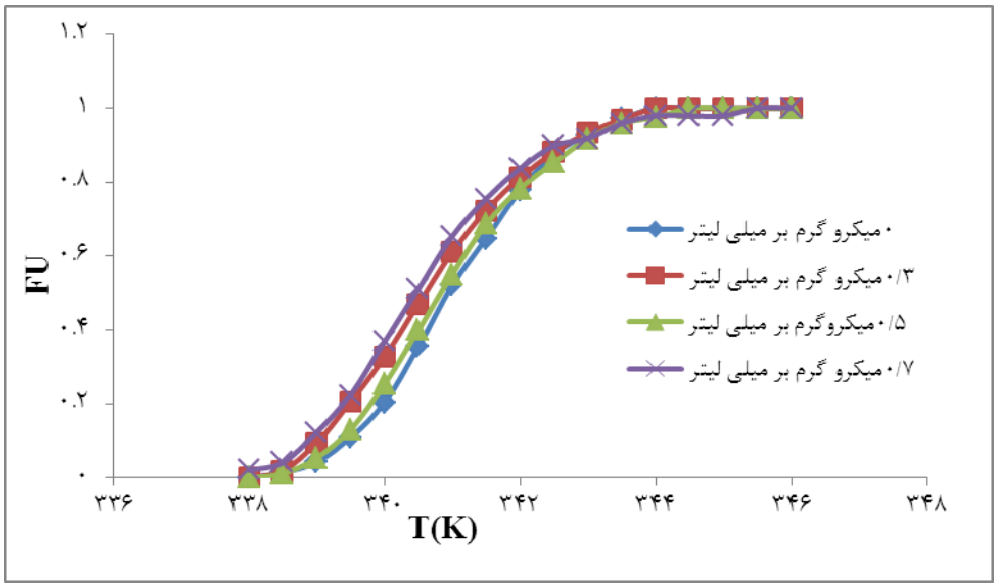
Archive of SID

pH=۲ را نشان می‌دهند. همان‌طور که در این نمودارها دیده می‌شود، با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن، منحنیهای دگرگون‌سازی برای آنزیم پپسین تقریباً تغییر پیدا نکرده است یعنی هرچه غلظت نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن افزایش می یابد، آنزیم پپسین تقریباً در همان دما دگرگون می شود.

در نمودارهای ۳ و ۴ تغییرات ΔG° علیه دما در غلظتهای مختلف نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن در pH=۲ مشاهده می‌شود. در این نمودارها دیده می‌شود که با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن، T_m آنزیم تقریباً تغییر نکرده است و درنتیجه پایداری حرارتی آن تقریباً ثابت مانده است.



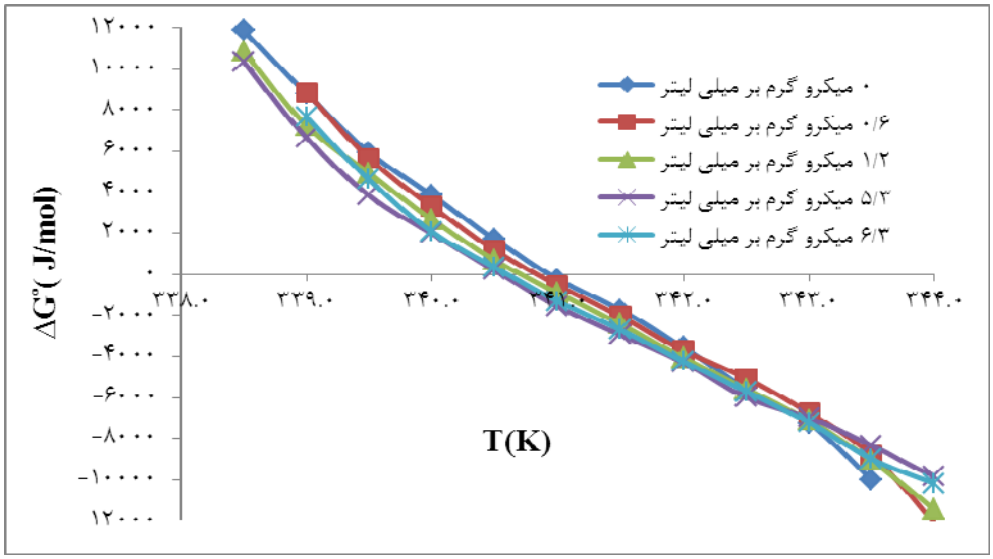
نمودار ۱- تغییراتF_U(کسر دگرگون‌سازی)آنزیم پپسین علیه دما در غلظتهای مختلف نانوذره اکسیدروی در pH=۲ و دامنه حرارتی۳۰۳ تا ۳۶۳ درجه کلوین



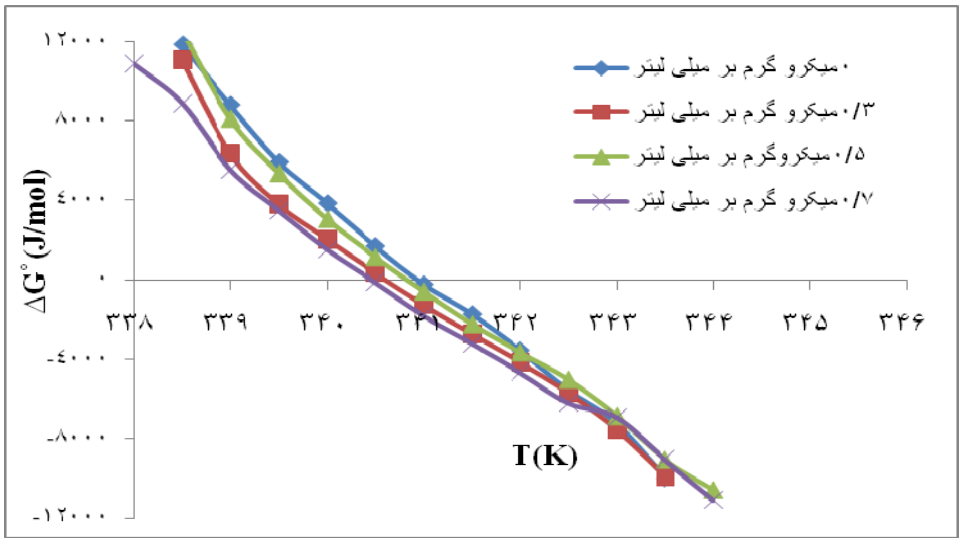
نمودار ۲- تغییراتF_U (کسر دگرگون‌سازی)آنزیم پپسین علیه دما در غلظتهای مختلف نانوذره اکسیدآهن در pH=۲ و دامنه حرارتی۳۰۳ تا ۳۶۳ درجه کلوین

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳- تغییرات ΔG°آنزیم پپسین علیه دما در غلظتهای مختلف نانوذره اکسیدروی در $pH=2$ و دامنه حرارتی۳۰۳ تا ۳۶۳ درجه کلوین



نمودار۴- تغییرات ΔG° آنزیم پپسین علیه دما در غلظتهای مختلف نانوذره اکسیدآهن در pH=۲ و دامنه حرارتی۳۰۳ تا ۳۶۳ درجه کلوین

در طی چند سال اخیر، مشخص شده‌است که نانومواد کاربردهای زیادی در صنایع دارند. برای مثال، این نانومواد در کرمهای ضد آفتاب به منظور جذب نور UV استفاده می شوند و یا در خمیر دندان و رنگها برای تثبیت رنگ سفید به مدت طولانی، به‌کار می روند، تعدادی از آنها نیز در صنعت الکترونیک مورد استفاده قرار می گیرند. علاوه بر این نانومواد کاربردهای زیادی در پزشکی، لوازم آرایشی، وسایل ورزشی، سلولهای سوختی و دیگر صنایع دارند. با این وجود نانوذرات به خاطر اندازه کوچکشان از طریق استنشاق، هضم، نفوذ پوستی یا تزریق وارد بدن می شوند و باعث ایجاد آسیب فیزیکی یا القای پاسخ التهابی زیان باری در بدن خواهند شد. در چندین مطالعه نشان داده شده‌است که نانوذرات می توانند از سد خونی–مغزی عبور کنند و وارد سیستم عصبی مرکزی(CNS) شوند. همچنین استرس اکسیداتیو ایجاد شده از طریق نانوذرات باعث از بین رفتن لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، پروتئینها و DNA خواهد

www.SID.ir

Archive of SID

شد که در این بین، پروکسیداسیون لیپید، بیشترین آسیب را به بدن وارد می کند چون سبب می شود که در غشای سلول تغییراتی ایجاد شود(۱۹و۲۰). از نانوذرات اکسیدروی در زمینه های متعددی از جمله در پوشش رسانای اکسیدی با قابلیت هدایت بالا برای سلولهای خورشیدی، حسگر های گازی، آشکار ساز های نوری ماوراء بنفش،جاذب شیمیایی، کاتالیستهایی برای هیدروژن دار کردن درفاز مایع، کاتالیستهایی برای تخریب نوری به جای نانو ذره های تیتانیوم، ساخت نیمه هادیها، فیلترکننده های اشعه ماوراء بنفش و در زمینه های علوم پزشکی و دارویی به عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات برای مقابله با عفونتهای بیمارستانی ناشی از باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی استفاده می شود (۱).

نانوذرات از جمله اکسید کادمیوم در طراحی حسگرهای زیستی نیز کاربرد دارند، نقش مؤثر نانوذرات در حسگرهای زیستی افزایش سرعت انتقال الکترون بین گونه احیاء واکسایش می باشد (۲).

در مطالعه ای که اثر نانوذره SiO_2 را بر روی آنزیم لیزوزیم بررسی کردند نشان دادند با افزایش غلظت نانوذره SiO_2 میزان آلفا هلیکس لیزوزیم نسبت به آنزیم طبیعی کمتر می گردد. علاوه بر این با افزایش سایز نانوذره SiO_2 نیز میزان آلفاهلیکس لیزوزیم کاهش می یابد (۱۸). نانوذره SiO_2 دارای بار منفی است و از طریق بر همکنش الکترواستاتیک با لیزوزیم واکنش می‌دهد و سبب باز شدن تاخوردگی آنزیم می‌شود و ساختار دوم لیزوزیم از بین می‌رود میزان آلفا هلیکس کم شده ولی پیچه های تصادفی زیادمی‌شوند، همچنین محتوای صفحه بتا کمی افزایش می یابد (۲۱). در مطالعه‌ای که اثر نانوذرات اکسیدروی بر روی پروتئین میوگلوبین بررسی شده، نشان داده شده است که جزء آلفاهلیکس میوگلوبین کاهش می یابد اگرچه حتی در حضور بیشترین غلظت نانوذرات اکسیدروی ساختار مارپیچی میوگلوبین حفظ می شود(۹). آزمایشات مختلف نشان داده‌اند که وقتی لیزوزیم برروی سطح نانوذره مغناطیسی اکسیدآهن جذب می شود، محتوای صفحه بتای آن از ۲۵/۴۲ درصد به ۲۷/۴۹ درصد افزایش می یابد و محتوای آلفا-هلیکس آن نیز از ۱۵/۹ درصد به ۲۴/۲۹ درصد افزایش پیدا می‌کند. برعکس، محتوای رندوم‌کویل و T-ترن کاهش می‌یابد (۱۷).

در مطالعه ای که اثر نانوذره TiO2 را بر روی لیزوزیم بررسی کردند نشان داده شده است که اثر TiO_2 روی ساختار دوم لیزوزیم اثر می گذارد به این صورت است که میزان آلفا هلیکس آنزیم را به شدت کاهش می دهد ولی بتا شیت را افزایش می دهد و پیچ- بتا را همراه با رندوم کویلها کاهش می دهد. با نزدیک شدن لیزوزیم به سطح TiO_2 هیدروژن باند هایی از نوع N-H…..O , O-H…..O تشکیل می شوند. دلیل این تغییرات گسترده بر روی ساختمان دوم لیزوزیم این است که تعداد زیادی از گروههای زنجیره های قطبی به TiO_2 باند هستند لیزوزیم دچار پیچ خوردگی و تغییر ساختار زنجیره ها می شود که از این رو هیدورژن باند های آلفا هلیکسهای داخلی از بین می روند (۲۲).

در مطالعه ای که اثر نانوذره TiO_2 را بر روی پپسین بررسی کردند نشان دادند که نانو TiO_2، β-sheet وβ-turn را کاهش می‌دهد و همچنین لوپ β-hairpin را که از جایگاه فعال محافظت می‌کند، تخریب می نماید. نانو TiO_2 یک اثر اتصالی قوی دارد و می‌تواند OH- در سطح ذرات در شرایط آبی تولید کند. اثر اتصالی و تجمع OH- ممکن است سبب تغییر در قطبیت پپسین و ساختار جایگاه‌فعال شود، به این صورت منجر به کاهش فعالیت پپسین شود. برهمکنش بین نانو TiO_2 و پپسین بیشتر الکتروستاتیک، همراه با اتصالات هیدروفوبیک می‌باشد. برهمکنش نانوTiO_2 با پپسین از نوع غیرکووالان است. اتصال غیر-کووالان، شامل نیروهای الکتروستاتیک، اتصالات هیدروفوبیک و پیوند هیدروژنی، اغلب ضعیف و غیر-

www.SID.ir

Archive of SID

اختصاصی است اما ترکیبی از پیوندهای غیرکووالان ممکن است سبب تغییر صورتبندی و عملکرد پروتئین شود(۲۳).

T_m، یک شاخص پایداری گرمایی پروتئین است، T_m بالاتر نشان دهنده پایداری بیش تر پروتئین است. دگرگون سازی پروتئین یک متد کلیدی در ترمودینامیک و آنالیز جایگاه اتصال است که می تواند درک و فهم را از ارتباط ساختار و عملکرد پروتئین افزایش دهد (۳). T_m یا دمای ذوب یک آنزیم، دمایی است که در آن ΔG° برابر با صفر است. که نحوه محاسبه آن در ابتدای مبحث نتایج بیان شده است. در نمودارهای تغییرات کسر دگرگون سازی علیه دما چنانچه نمودار به سمت دمای بیشتر شیفت کند یعنی میزان پایداری آنزیم بیشتر شده است در واقع آنزیم در دمای بیشتری دگرگون می شود، چنانچه چنانچه نمودار به سمت دمای کمتر شیفت کند یعنی میزان پایداری آنزیم کمتر شده است در واقع آنزیم در دمای کمتری دگرگون می شود.

همان طور که در نمودارهای کسردگرگون سازی و تغییرات انرژی آزاد گیبس نشان داده شد با افزایش غلظت نانوذره اکسیدروی و اکسیدآهن منحنیهای دگرگون‌سازی برای آنزیم پپسین تقریباً تغییر پیدا نکرده است یعنی هرچه غلظت نانوذره اکسیدروی و اکسیدآهن افزایش می‌یابد، آنزیم پپسین تقریباً در همان دما دگرگون می‌شود. با توجه به اینکه pH ایزوالکتریک آنزیم پپسین تقریباً ۱ می باشد (۵). آنزیم پپسین در pHهای بالاتر ازنقطه ایزوالکتریک دارای بار منفی ودرpH های پایین تر از آن دارای بار مثبت است. پس در نتیجه آنزیم پپسین در pH=۲ دارای بار منفی می باشد. از طرفی نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن به ترتیب دارای نقطه ایزوالکتریک ۹ و۵/۱ هستند(۱۲). پس این نانوذرات در pH=۲ دارای بار مثبت هستند و پپسین هم که دارای بار منفی است، بنابراین نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن از طریق برهمکنش الکتروستاتیک و همچنین از طریق پیوند هیدروژنی در صورتی که زاویه و فاصله بین آنها به اندازه‌ای باشد که برای تشکیل پیوند هیدروژنی مجاز باشد، به پپسین متصل می شوند، با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش می توان گفت که میزان برهمکنشهای هیدروژنی و الکتروستاتیک بین نانوذرات اکسیدروی با پپسین به اندازه‌ای نبوده که سبب تغییر ساختار سه‌بعدی آنزیم و دناتوراسیون آن شود.

منابع

۱.آشنگرف، مراحم.(۱۳۹۳) معرفی سویه جدید مخمری Candida sp. strain MY2 با توان بالقوهٔ سنتز سریع و برون سلولی نانوکریستالهای اکسید روی. مجله زیست شناسی، ۲۷:۲، ص.۱۶۶-۱۵۵.

۲ .رضایی زارچی، سعید.، نگهداری، مسعود. ۱۳۹۳ طراحی حسگر زیستی اندازه گیری گلوکز با استفاده از الکترود اصلاح شده با نانو ذرات کسید کادمیوم و آنزیم گلوکز اکسیداز، ۲۷:۳، ص۳۶۶-۳۵۴.

3.Behbehani G. R., Saboury A. A. and Taleshi E. 2008. A direct calorimetric determination of denaturation enthalpy for lysozyme in sodium dodecyl sulfate. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 61(2): 224-228.

4.Bellova, A., E.Bystrenova, et al. 2010. Effect of Fe_3O_4 magnetic nanoparticles on lysozyme amyloid aggregation. Nanotechnology21: 065103.

5.Chakraborty, T., Chakraborty, I., Moulik, S.P.& Ghosh, S. 2007. Physicochemical studies on pepsin-CTAB interaction: Energetics and structural changes. the Journal of Physical Chemistry B, 111(10): 2736-2746.

6.Dunn, B.M. 2001. Overview of Pepsin-like Aspartic Peptidases. Current Protocols in Protein Science, 21-3.

7. Fink, A. L., Calciano, L. J., Goto, Y., Kurotsu, T. & Palleros, D. R. 1994. Classification of acid denaturation of proteins: intermediates and unfolded states. Biochemistry, 33(41): 12504-12511.

8.Horimoto, Y., Dee, D.R.& Yada, R.Y. 2009. Multifunctional aspartic peptidase prosegments. New biotechnology, 25(5): 318-324.

www.SID.ir

Archive of SID

9.Mandal, G., Bhattacharya, S.& Ganguly, T. 2011. Mode of bindings of zinc oxide nanoparticles to myoglobin and horseradish peroxidase: A spectroscopic investigations. Journal of Applied Physics, 110(2): 024701-024701.

10.Mnyusiwalla, A., A.S. Daar, et al. 2003. Mind the gap': science and ethics in nanotechnology. Nanotechnology14: R9.

11.Murray, K., Rodwell, V., Bender, D., Botham, K. M., Weil, P. A. & Kennelly, P. J. 2009. Harper's Illustrated Biochemistry. 28, New York: McGraw-Hill.

12.Norouzi, P., Ganjali, H., Larijani, B., Ganjali, M.R., Faridbod, F.& Zamani, H.A. 2011. A glucose biosensor based on nanographene and ZnO nanoparticles using FFT continuous cyclic voltammetry. International Journal of Electrochemical Science, 6: 5189-5199.

13.Okoniewska, M., Tanaka, T.& Yada, R.Y. 1999. The role of the flap residue, threonine 77, in the activation and catalytic activity of pepsin A. Protein Engineering, 12(1):55-61.

14.Sielecki, A.R., Fedorov, A.A., Boodhoo, A., Andreeva, N.S.& James, M.N.G. 1990. Molecular and crystal structures of monoclinic porcine pepsin refined at 1.8 A resolution. Journal of Molecular Biology, 214(1):143-170.

15.Silva, G.A. 2004.Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. Surgical Neurology, 61(3): 216-220

16Singh, M., S. Singh, et al. 2008.Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles.Digest J. Nanomater.Biostructures, 3(3): 115-122

17.Sun, J., R.Xu, et al. 2011. Conformational changes and bioactivity of lysozyme on binding to and desorption from magnetite nanoparticles. Journal of ChromatographyB879(13): 3053-3058.

18.Vertegel, A. A., Siegel, R. W. & Dordick, J. S. 2004. Silica nanoparticle size influences the structure and enzymatic activity of adsorbed lysozyme. Langmuir,20(16):6800-6807.

19.Wang, Y., B.Wang, et al. 2011. Microglial activation, recruitment and phagocytosis as linked phenomena in ferric oxide nanoparticle exposure. Toxicology Letters205(1): 26-37.

20.Xu, Z., X.W. Liu, et al. 2009. Interaction of nano-TiO_2 with lysozyme: insights into the enzyme toxicity of nanosized particles. Environmental Science and Pollution Research17(3): 798-80.

21.Wu X. and Narsimhan G. 2008. Effect of surface concentration on secondary and tertiary conformational changes of lysozyme adsorbed on silica nanoparticles. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins & Proteomics, 1784(11): 1694-1701.

22.Yongli C., Xiufang Z., Yandao G., Nanming Z., Tingying Z. and Xinqi S. 1999. Conformational Changes of Fibrinogen Adsorption onto Hydroxyapatite and Titanium Oxide Nanoparticles. Journal of colloid and interface science, 214(1): 38-45.

23.Zhu, R.-R., Wang, W.-R., Sun, X.-Y., Liu, H. & Wang, S.-L 2010. Enzyme activity inhibition and secondary structure disruption of nano-TiO_2 on pepsin. Toxicology in Vitro, 24(6): 1639-1647.

www.SID.ir

Archive of SID

Structural study on pepsin stability in the presence of ZnO and Fe3O4 nanoparticles

Shareghi B., Shahdadnejad K. and Mohammadi H.

Biochemistry Dept., Faculty of Science, University of Shahrekord, Shahrekord, I.R. of Iran

Abstract

Porcine pepsin A (EC 3.4.23.1), belongs to the aspartic protease family, and is secreted as a zymogen called pepsinogen. Pepsinogen activation occurs at pH values between 1 and 4. Pepsin consists of a bilobal conformation with two catalytic aspartic residues (Asp32 and Asp215) on either side of the active site, The structure of porcine pepsin is predominantly β-strand and random coil with limited α-helix. Porcine Pepsin is most efficient cleaving peptide bonds between hydrophobic and preferably aromatic amino acids such as phenylalanine, tryptophan, and tyrosine. Because the importance of pepsin enzyme as an industrial enzyme in the food industry and nano particles functions in industry, we investigated Structural stability of pepsin in presence and absence of ZnO and Fe_3O_4 nanoparticles. This study were performed using glycin-Hcl(0.1M) buffer at pH=2 and temperature range (303 to 363) K. porcine Pepsin stability Was not changed in the presence of Zno and Fe3O4 nanoparticles. Strength of the electrostatic and hydrogen interactions between pepsin enzyme and ZnO , Fe_3O_4 nanoparticles Were a low level in denaturation of pepsin.

Key words: pepsin, Structural stability, ZnO and Fe_3O_4 nanoparticles, denaturation

www.SID.ir