------مجلة علوم الرافدين، المجلد 21، العدد 3، ص121-137،2010------

عزل ودراسة إنزيم الديوكسي رايبونيوكليز الحامضي من دم المرضى المصابين باحتشاء العضلة القلبية الحاد

رغد عبد الموجود محمد ليلى عبد الله مصطفى

قسم الكيمياء

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 15/ 12 / 2009 ؛ تاريخ القبول 26 /4 / 2010)

الملخص

تضمن البحث الحالي دراسة كيموحيوية لإنزيم الديوكسي رايبونيوكليز الحامضي DNase II الذي تم عزله من مصل دم الأشخاص المصابين باحتشاء العضلة القلبية الحاد. وأظهرت النتائج وجود زيادة معنوية في فعالية إنزيم DNase II في مصل دم الأشخاص المصابين إذ بلغ معدل الفعالية (6.90±268.0) وحدة/لتر مقارنة مع معدل الفعالية للأشخاص الأصحاء (1.60±25.70) وحدة/لتر، لذا يعد إنزيم DNase II كمؤشر للإصابة باحتشاء عضلة القلب الحاد. تم عزل إنزيم DNase II من مصل دم الأشخاص المصابين بالاحتشاء القلبي الحاد باستخدام التقنيات الحياتية المختلفة حيث تم فصل حزمتين بروتينيتين رئيستين من البروتينات بتقنية الترشيح الهلامي للراسب البروتيني الناتج من عملية الترسيب بكبريتات الامونيوم، وأظهرت واحدة منها فقط فعالية لإنزيم DNase II، وقدر وزنها الجزيئي التقريبي باستخدام تقنية الترشيح الهلامي وكان بحدود (67000) دالتون. وتضمن أيضاً إيجاد الظروف المثالية لفعالية إنزيم DNase II وكانت الفعالية القصوى كالآتي باستخدام (32) مايكروغرام/مليلتر من الحامض النووي الديوكسي رايبوزي DNA بوصفها مادة أساس للإنزيم، و (0.1) مولار من المحلول المنظم للخلات عند الأس الهيدروجيني (pH=4.5) وبدرجة حرارة (40) درجة مئوية وبزمن تفاعل (150) ثانية. تم إيجاد قيمة السرعة القصوى وثابت مكيلس-منتن باستخدام رسم لاين ويفر-برك وكانت مساوية لـ (125) وحدة/لتر و(1.8) مايكروغرام/مليلتر على التوالي. وأخيراً تمت دراسة تأثير بعض المركبات الكيميائية والنيوكليوتيدات على فعالية إنزيم الـ DNase II، وتبين أن استخدام الاثيلين ثنائي أمين رباعي حامض الخليك وبتركيز (5) ملي مولار أعطى تثبيطاً كلياً وبنسبة 100% لانزيم DNase II بينما استخدام كبريتات النحاس وبتركيز (10) ملي مولار أبدت أعلى تنشيط للانزيم وبنسبة 157.36% مقارنة بالمركبات الكيميائية الأخرى، أما بيتا-ميركابتوايثانول و 5-ديوكسي كوانوسين

احادي الفوسفات (5'-dGMP) و5- ديوكسي يوريدين احادي الفوسفات (5'-dUMP) أظهرت تأثير تنشيطي للانزيم (78.02% و189% و201%) على التوالي، ووجد أن الايزورديل يعمل مثبطاً تنافسياً لفعالية الأنزيم عند تركيز (0.01) مولار.

الكلمات الدالة: انزيم الديوكسي رايبونيوكليز الحامضي، احتشاء العـضلة القلبيـة الحـاد، النيوكليوتيـدات، الظروف المثلى، مؤشر.

Isolation and a Study of Acidic Deoxyribonuclease from Blood of Acute Myocardial Infarction Patients

Layla A. Mustafa **Raghad A. Mohammed**

Department of Chemistry
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

The current research was concerned with a biochemical study of acidic deoxyribonuclease DNase II which was isolated from the serum of patients suffering acute myocardial infarction (AMI) as a marker for diagnosis of AMI. The results showed a significant increase in the activity of DNase II enzyme in the serum of the AMI patients with a mean value (268.0± 6.90) U/L compared to the activity of healthy people (25.7± 1.60) U/L. The enzyme was isolated from the blood of AMI patients using different biochemical techniques. Two proteinous components had been isolated by gel filtration technique from the precipitate produced by ammonium sulfate. It was found that only the first peak has DNase II activity. The apparent molecular weight of the enzyme using gel filtration was found to be (67000) Dalton. The research was also concerned with finding of optimum conditions for DNase II activity. Maximum activity was obtained using (32) μ g/ ml of deoxyribonucleic acid as a substrate for the enzyme, in acetate buffer at pH (4.50) and temperature of (40) ^{0}C at a reaction time of (150) second. Using Line Weaver-Burk plot, it was found that maximum velocity V_{max} and Michaelis Menten constant K_m have the values of (120.5) U/ L and (1.8) μ g / ml respectively. Finally, the effect of some chemical compounds and nucleotides on the DNase II activity was also studied. It was found that EDTA showed a maximum inhibition with (100%) on the activity of the enzyme at a concentration of (5) mmol, while $CuSO_4$ obtained maximum activation with (157.36%) on the activity of the enzyme at a concentration of (10) mmol in comparison to other chemical compounds, But. β-Mercaptoethanol, 5'-dGMP and 5'-dUMP showed activation effect on the activity of the enzyme at a concentration (0.1) mmol with (78.02%, 189% and 201%) respectively. It was found that Isordil showed a competitive inhibition on the activity of the enzyme at a concentration of (0.01) M.

Key words: Acid DNase II, Acute Myocardial infarction, Neucleotides, optimum conditions, Marker.