ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

تخلیص و خواص فیتاز خارج سلولی از باسیلوس سوبتیلیس sp. KHU-10

چکیده

گونه های باسیلوس که تولید فیتاز باثبات از لحاظ حرارتی می کنند از خاک، برنج پخته، و مزو (کوجی سنتی کره ای) جداسازی شدند. فعالیت فیتاز به طور برجسته ای در فاز آخری ثابت افزایش یافت. یک فیتاز خارج سلولی از سوش Bacillus sp. KHU-10 به شکل همگن توسط رسوب استون و کروماتوگرافی ستونی فنیل-سفاروز و DEAE-سفاروز تخلیص گردید. وزن مولکولی آن حدود kDa46 روی فیلتراسیون ژل و kDa44 روی الکتروفورزیز ژل پلی آکریلامید-SDS تخمین زده شد. pH بهینه آن و درجه حرارتش برای فعالیت فیتاز برابر با 6.5-8.5 و 40 درجه سانتیگراد بدون 10 mM CaCl2 و با pH برابر با 6.0-9.5 و 60 درجه سانتیگراد با 10 mM CaCl2 بودند. حدود 50 درصد از فعالیت اصلی آن بعد از انکوباسیون در دمای 80 درجه سانتیگراد یا 10 دقیقه در حضور 10 mM CaCl2 باقی ماند. فعالیت انزیم نسبتا از pH برابر با 6.5 تا 10.0 ثابت باقی ماند. آنزیم دارای نقطه ایزوالکتریکی برابر با 6.8 بود. همانند اختصاصی بودن سوبسترا، برای سدیم فیتات هم خیلی اختصاصی بود و هیچ فعالیتی را روی استرهای فسفات دیگر نشان نداد. مقدار Km برای سدیم فیتات برابر با 50µm بود. فعالیت آن توسط EDTA و یونهای فلزی مانند Ba^{2+}, Cd^{2+}, Co^{2+}, Cr^{3+}, Cu^{2+}, Hg^{2+}, و Mn^{2+} مهار گردید

کلیدواژه ها: سوش .Bacillus sp، فیتاز، کلسیم

1-مقدمه

فیتاز (میو-اینوزیتول هگزاکیسفپات درولاز فسفری EC 3.1.3.8) باعث کاتالیز رهاسازی فسفات از فیتات می شود (یعنی میواینوزیتول هگزاکی فسفات) که شکل اصلی فسفر است که عمدتا در دانه های غلات، حبوبات و دانه های روغنی وجود دارد. هیدرولیز اسیدفیتیک (فیتات) به میو-اینوزیتول و فسفریک اسید یک فرایند متابولیکی مهم در چندین بیوسیستم درنظر گرفته می شود. افزایش آگاهی نسبت به آلاینده های کشاورزی و تقاضا برای مقرراتی بویژه برای محدودسازی محتوای فسفر (P) در کود دام باعث تشدید تحقیقات فیتاز شده

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

است. کانون توجه اساسا روی تولید آن و استفاده اش به عنوان راهی برای کاهش مکمل P غیرآلی در علوفه و کاهش بعدی در ترشح P مدفوع شده است. آلودگی محیط زیستی به دلیل کود دارای فسفات بالا منجر به تجمع P در انواع محلها بویژه در سفره های آبی شده است. مکمل فیتاز می تواند باعث کاهش P در کود دام تا تقریبا 30 درصد بشود.

فیتاز برای ارتقا کیفیت تغذیه ای از خوراک غنی از فیتات مهم است. فیتاز همچنین قابلیت دسترسی زیستی P فیتات را در غذاهای گیاهی برای انسان بهبود می بخشد. دو گروه مهم حیوانات، خوک ها و مرغ، فاقد انزیم مورد نیاز برای هضم فیتات در خوراک خود می باشند. در نتیجه، مقادیر زیادی P را به محیط ترشح می کنند. این کار منجر به آلودگی می شود. با اینحال، برای رشد مناسب اسکلت خود، این حیوانات به غلظت مناسبی از P نیاز دارند. این امر وضعیت را پیچیده می کند. افزودن مکمل فیتاز به خوراک دام یک منبع دیگری را برای مقابله با هردوی این شرایط به نحو موثر فراهم می کند.

فیتاز می تواند از تعدادی از منابع شامل گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم ها مشتق شود. تحقیقات اخیر نشان داده است که منابع میکروبی برای تولید فیتازها در سطح بازار نویدبخش هستند. گرچه چندین سوش از باکتریها، مخمرها و قارچ ها برای تولید در شرایط مختلف بکار رفته است، دو سوش از Aspergillus sp., A. niger, A. ficuum برای تولید تجاری اش بیش از بقیه بکار رفته است.

گرچه فیتاز قابلیتی را برای کاربرد در تبدیل زیستی فیتات نشان می دهد، فعالیت های آنزیم و عملکرد آن باید افزایش یابد تا بتوان آنها را در صنعت بکار برد. بنابراین مهم است که انواع مختلف میکروارگانیسم ها و انزیم هایشان برای تجزیه فیتات جداسازی شوند.

ما گزارش کرده ایم که سوش Bacillus sp. KHU-10 میزان بالایی فیتاز خارج سلولی را در محیط کشت مالتوز، پپتون و عصاره گوشت گاو تولید می کند. تحت شرایط بهینه شده، تولید فیتاز بعد از 4 روز تخمیر به بالاترین سطح به اندازه 0.2 واحد در میلی لیتر رسید. ما در اینجا مشخصات فیتاز باکتریایی جدید را از سوش مقاوم به حرارت Bacillus sp. KHU-10 اخیرا جداسازی شده گزارش کرده ایم.

2-مواد و روشها

2-1-سوش باکتریایی و شرایط کشت

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

باکتریهای جداسازی شده از خاک، برنج پخته شده و مزو (کوجی سویای کره ای) در محیط کشت مایع در دمای 37 درجه سانتیگراد با تکان دادن متقابل در 200 دور بر دقیقه کشت شدند. لایه رویی محیط کشت مایع بروث برای بهترین فعالیت یتاز تست گردید. سوش Bacillus sp. KHU-10 از برنج پخته شده به عنوان سوشی با بهترین فعالیت فیتاز جداسازی گردید. این سوش روی محیط کشت حاوی 1.0% مالتوز، 1.0% پپتون، 0.5% عصاره گوشت، 0.1% از CaCl2، و 0.1% ی MgSO4 با 7 مولکول آب کشت گردید و pH اولیه تا 7 تنظیم گردید. محیط کشت استریل 100 میلی لیتری در فلاسک ارلن مایر 300 ml با محیط کشت مایع بروث دانه ای 2 درصد تلقیح گردید.

2-2-سنجش فعالیت فیتازی

فعالیت فیتازی با انکوباسیون 0.1 ml از محلول انزیم با 0.9 ml از فیتات سدیم 2mM در بافر Tris-HCl ی 0.1M (pH برابر با 7) اندازه گیری گردید. واکنش انزیم در 37 درجه سانتیگراد انجام گردید و بعد با افزودن 0.75 ml از تری کلرواستیک اسید 5 درصد، متوقف گردید. فسفات آزادسازی شده در سرعت 700rpm پس از افزودن 1.5ml از معرف رنگ اندازه گیری گردید که قبل از استفاده با مخلوط کردن چهار حجم از محلول مولیبدات آمونیوم 2.5 درصد در اسیدسولفوریک 5.5 درصد و یک حجم محلول فروسولفات 2.5% به شکل تازه آماده سازی شد. یک واحد فعالیت فیتازی به صورت آزادسازی 1mM فسفات در هر دقیقه تحت شرایط آزمایش تعریف شد. پروتئین طبق گفته برادفورد با استفاده از یک کیت آزمایشگاهی سنجش پروتئین (شرکت Bio-Rad ، ریچموند کالیفرنیا) با آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد تعیین گردید.

2-3-تخلیص فیتاز

بدون توضیح خاصی، تمام بافرهایی که برای تخلیص آنزیم استفاده گردید حاوی 2ml از CaCl2 بود زیرا یون Ca2+ بنا به اثبات تثبیت کننده فعالیت انزیمی است. لایه رویی کشت حاوی آنزیم سانتریفوژ گردید تا باقیمانده نامحلول حذف گردد و سپس تا یک دهم لایه رویی محیط کشت اصلی با اولترافیلتراسیون از طریق غشای آمیکون YM10 (شرکت Amicom Co.، شهر دانور) تغلیظ گردید. محلول آنزیم تغلیظ شده به کمک استون (30 الی 70 درصد) فراکسیون بندی گردید و سپس در بافر Tris-HClی 10M (با pH برابر با 7) مجددا سوسپانسیونه گردید. بعد از دیالیز، محلول انزیم در ستون DEAE-Sepharose بارگذاری شد. فعالیت فیتاز در

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

فراکسیون رقیق سازی شده با NaClی 0.15M یافت گردید. انزیم رقیق سازی شده دوباره روی ستون فنیل-سفاروز CL-4B بارگذاری گردید و بعد با کاهش گرادیان خطی محلول NaCl از 0.4 به 0 mM کاهش یافت. فراکسیون فعال طبق بافر Tris-HClی 10mM بدون CaCl2 دیالیز شد و با استفاده از یک سلول اولترافیلتراسیون با غشای YM10 تغلیظ گردید.

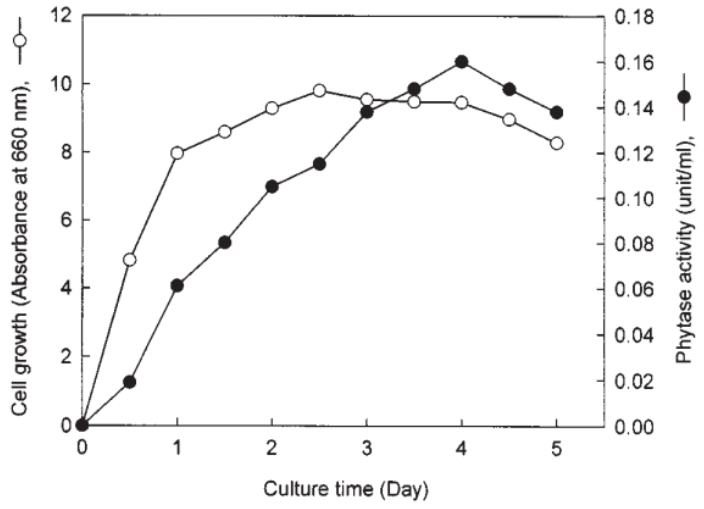
2-4-تعیین وزن مولکولی

وزن مولکولی بومی توسط فیلتراسیون ژل روی ستون Sephadex G-100 با استفاده از پروتئین های استاندارد (شرکت شیمیایی سیگما شهر سنت لوییس میسوری) و با 12% SDS-PAGE با استفاده از کیت استانداردهای وزن مولکولی SDS-PAGE (شرکت سیگما) طبق توصیه های سازنده تعیین گردید.

3-نتایج

3-1-کشت سوش Bacillus sp. KHU-10

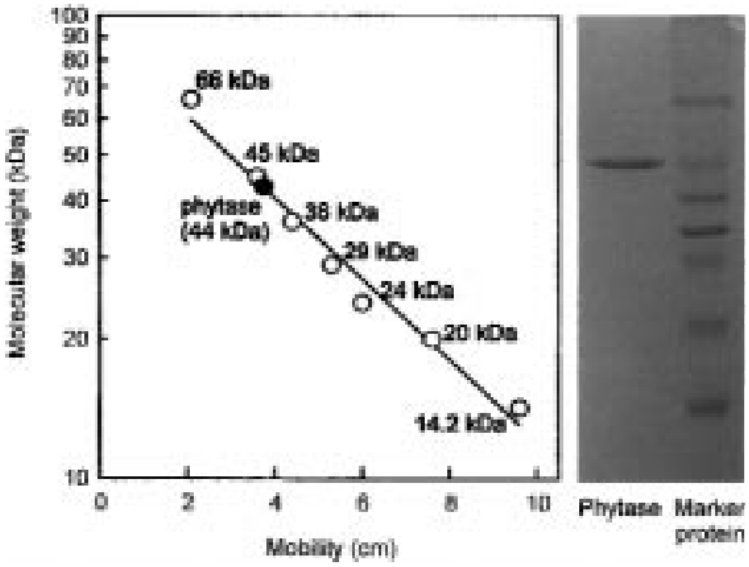
محیط کشت برای تولید فیتاز طبق توضیحات بخش 2 استفاده گردید. هیچ گونه نمکهای فسفات در محیط کشت قرار نگرفت. کشت به شکل هوازی در بیرون برای مدت 5 روز در 37 درجه سانتیگراد انجام گردید. این فعالیت بطور قابل توجهی افزایش یافت پس از اینکه سلولها به مرحله ثابت آخری رسیدند (شکل 1). چون سنتز آنزیم به محض اینکه سرعت رشد شروع به کاهش کرد، شروع شد، این گمان وجود اشت که یک نوترینت یا یک محدودیت انرژی معینی که در فاز ثابت روی داده است، می تواند در پاسخ به محدودیت برخی نوترینت ها سنتز بشود.



شکل 1-فعالیت فیتازی طی رشد سوش Bacillus sp. KHU-10 که روی محیط کشت حاوی مالتوز 1.0%، پپتون 1.0% ، عصاره گوشت گاو 0.5%، CaCl2ی 0.1%، و MgSO4.7H2O 0.1% کشت گردید. pH اولیه به 7 تنظیم گردید.

3-2-تخلیص فیتاز

سلولهای برداشت شده در مرحله پایانی ثابت به عنوان منبع آنزیم استفاده شدند. فیتاز با استفاده از کروماتوگرافی تبادل یونی و کروماتوگرافی ستون هیدروفوبیک تخلیص گردید. روش های تخلیص برای فیتاز در جدول 1 خلاصه شده است. فعالیت فیتاز به عنوان یک پیک فعالیت منفرد بالا از هر ستون جداسازی گردید. فیتاز 124 بار از محیط کشت مایع بروث با بازده 15.4 درصد تخلیص گردید. آنزیم فعالیت 36.0 واحد در هر میلی گرم را نشان می دهد.



شکل 2-الکتروفورز ژل SDS-پلی آکریل آمید فیتاز از سوش Bacillus sp. KHU-10. خط 1: فیتاز تخلیص سازی شده، خط 2: استانداردهای وزن مولکولی شامل آلبومین گاوی (66 kDa) ، آلبومین تخم مرغی (45 kDa)، گلسیرآلدئید-3-p-دهیدروژناز (36 kDa) ،کربونیک آنهیدراز گاوی (29 kDa)، تریپسینوژن پانکراس گاوی (25 kDa)، مهارکننده تریپسین لوبیای سویا (20 kDa) ، و آلفا-لاکتوآلبومین (14.2 kDa) می باشد.

3-3-خصوصیات مولکولی

جرم مولکولی و همگن بودن انزیم تخلیص شده توسط SDS-PAGE و فیلتراسیون ژل تخمین زده شد. الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید تحت شرایط دناتوره فقط یک باند پروتئینی تک رنگ را پس از رنگ آمیزی Coomassie ی ژلها نشان داد (شکل 2). تمرکز Isoelectric باعث مشخص شدن یک باند اصلی مربوط به pI حدود 6.8 بوده است. این نتایج نشان می دهد که فیتاز می تواند همگن درنظر گرفته شود. وزن مولکولی ظاهری زیرواحد فیتاز تخلیص سازی شده تقریبا 44 kDa بنا به تخمین با الکتروفوریز ژل SDS-polyacrylamide بوده است (شکل 2). جرم مولکولی آنزیم بومی روی یک کروماتوگرافی ژل کالیبره سازی شده Sephadex G-100 به صورت 46 kDa تعیین شد.

3-4-اختصاصی بودن سوبسترا

اختصاصی بودن سوبسترای فیتاز KHU-10 در چندین استرفسفات در بافر 0.1 M Tris-HCl (pH برابر با 7) آزمایش شد. نمونه های شاهد برای تعیین فسفر اولیه در هر سوبسترا انجام گردید. طبق خلاصه جدول 2، انزیم برای فیتات سدیم دارای فعالیت شدیدی بود، ولی هیچ فعالیتی روی ترکیبات فسفریله شده دیگر مانند p-نیتروفنیل فسفات نداشت که یک سوبسترای معمولی برای اسیدفسفاتاز بوده است.

فیتاز KHU-10 بدنبال کینتیک Michaelis-Menten در هیدرولیز فیتات سدیم بود. این امر با منحنی Lineweaver-Burk خطی با سوبسترا تایید گردید. ثابت Michaelis (واحد Km) ی فیتاز KHU-10 برای فیتات سدیم برابر با 50 µm بود. Kcat مربوطه محاسبه شده برابر با 26.6 بر ثانیه بوده است.

جدول 1-عملیات تخلیص برای فیتاز از سوش Bacillus sp. KHU-10

Table I. Purification Procedures for the Phytase from *Bacillus* sp. KHU-10

Purification step	Total protein (mg)	Total activity (unit)	Specific activity (unit/mg)	Purification fold	Yield (%)
Culture broth	1500	510	0.34	1.0	100.0
Acetone fractionation	325	265	0.82	2.4	51.9
DEAE-Sepharose	18	165	9.17	26.9	32.4
Phenyl-Sepharose	3	108	36.00	105.8	21.1

جدول 2-اختصاصی بودن سوبسترای فیتاز از سوش Bacillus sp. KHU-10

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

Table II. Substrate Specificity of the Phytase from *Bacillus* sp. KHU-10

Substrate (2 mM)	Relative activity (%)
Sodium phytate	100
p-Nitrophenylphosphate	0
b-Glycerophosphate	0
Glucose-6-phosphate	0
Sodium glycerophosphate	0
AMP	0
ADP	0
ATP	0

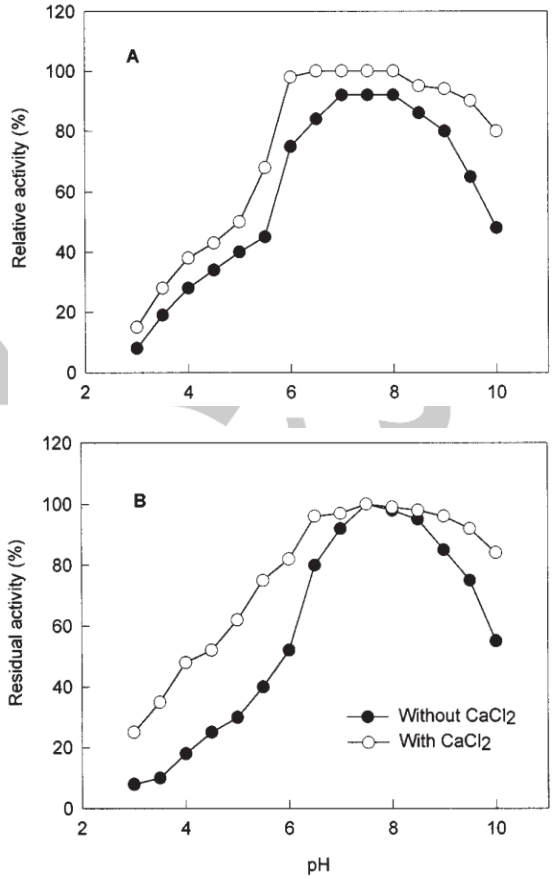
3-5-اثر pH و دما روی فعالیت انزیم

فعالیت فیتاز از pH برابر با 3 تا 10 با استفاده از بافر ترانس آکونیتات-NaOH (pH برابر با 3 الی 5.5)، تریس-مالات (pH برابر با 6 الی 7)، Tris-HCl (با pH برابر با 7.5 الی 8.5) و گلیسین-HCl (pH برابر با 9 الی 10) اندازه گیری گردید. فیتاز فعالیت بالایی را در محدوده pH نسبتا وسیعی بین pH ی 6.5 و 8.5 در مخلوط واکنش بدون CaCl2 نشان داد (شکل 3). ولی افزودن 10mM CaCl2 به مخلوط واکنش باعث افزایش فعالیت آنزیم شد و فعالیت بیشتری را در محدوده pHی 6-9.5 نشان داد. با اینحال، آنزیم با pH برابر با 6.5-8.5 با بافرهای انکوباسیون بدون CaCl2 نسبتا پایدار بود (شکل 3). افزودن 10 mM CaCl2 به بافرهای انکوبه شده این انزیم را در محدوده pHی 6.5-10 پایدارتر ساخته است. بدون CaCl2، دمای مطلوب برای فعالیت آنزیم 40 درجه سانتیگراد بود و آنزیم برای 10 دقیقه در بافر 10 M Tris-HCl (pH برابر با 7) تا 40 درجه سانتی گراد پایدار بود (شکل 4). در حضور 10 mM CaCl2، فعالیت انزیم در دمای 60 درجه سانتیگراد بالاترین بود و فعالیت انزیم باقی مانده بالای 95 درصد پس از انکوباسیون در دمای 60 درجه سانتیگراد به مدت 10 دقیقه بود. این نتایج نشان داد که یون کلسیم نه تنها بر قابلیت ثبات انزیم تاثیر می گذارد، بلکه بر فعالیت انزیم طبق دما و pH نیز اثر می گذارد.

3-6-اثر یونهای فلزی روی فعالیت فیتاز

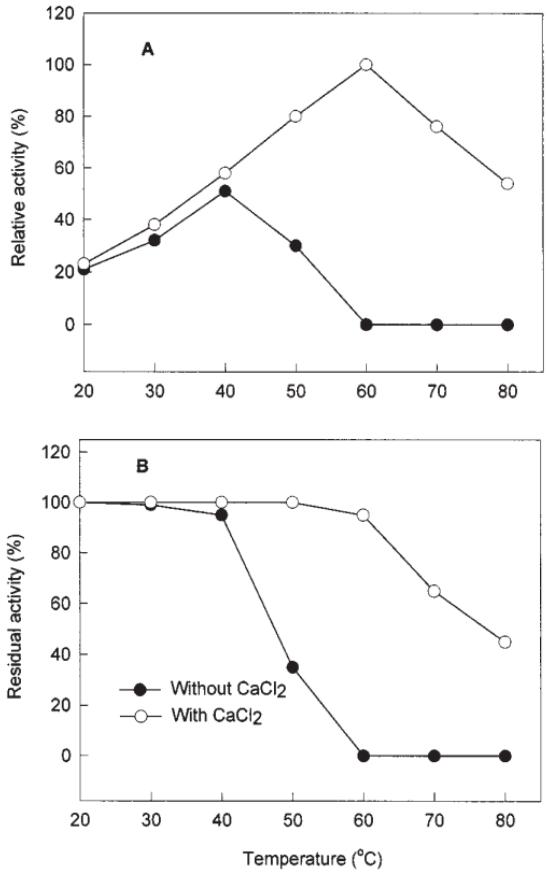
ترجمه فا
TarjomeFa.Com

پس از حذف یون کلسیم از محلول انزیم با استفاده از اولترافیلتراسیون، اثر یون های فلزی روی فعالیت فیتاز با فیتات سدیم به عنوان سوبسترا بررسی شد (جدول 3). کاهش (90٪) فعالیت فیتاز با 1mM EDTA می تواند ناشی از تاثیر روی ناحیه برخورد سوبسترا و آنزیم باشد. مهار EDTA با افزودن یون +Ca2 طی دو برابر غلظت وارونه گردید. فعالیت های فیتاز به ترتیب تا 65، 100، 40، 55، 41، 57، و 83 درصد با یونهای یونهای Ba2 +، +Cd2، +Co2، +Cr2، +Cu2، +Hg2 وMn2 + کاهش یافت. بااینحال، کاهش فعالیت فیتاز توسط این یونهای فلزی با افزودن در همان غلظت یون +Ca2 به جز یون +Cd2 نسبتا بهبود یافت.



شکل 3-اثر pH روی فعالیت فیتاز و قابلیت ثبات آن. فعالیت آنزیم (A) در بافرهای pH مختلف بدون و با 10 mM CaCl2 ارزیابی و سنجش گردید. برای تعیین قابلیت ثبات pH (B)، انزیم در بافرهای pH مختلف بدون و با 10 mM CaCl2 برای مدت 30 دقیقه پیش انکوباسیون گردید و فعالیت باقیمانده با استفاده از مخلوط واکنش استاندارد اندازه گیری گردید. بافرهای استفاده شده به ترتیب ذیل می باشند: pH 3-5.5، ترانس

آکونیتات-NaOH، pH برابر با 6-7، تریس-مالات؛ pH برابر با 7.5-8.5، Tris-HCl ؛ pH برابر با 9-10، گلایسین-HCl.



شکل 4-اثر درجه حرارت روی فعالیت فیتاز و قابلیت ثبات. فعالیت انزیم (A) در درجه حرارت های مختلف بدون و با 10 mM CaCl2 اندازه گیری گردید. برای تعیین قابلیت ثبات حرارتی (B)، انزیم در درجه حرارت های مختلف با و بدون 10 mM CaCl2 برای 10 دقیقه پیش انکوباسیون گردید. فعالیت باقیمانده با استفاده از مخلوط واکنش استاندارد اندازه گیری گردید.

4-بحث

فیتاز از سوش Bacillus sp. KHU-10 در مرحله رشد نمایی سنتز نمی شود. این القای فاز ثابت نشان می دهد که فیتاز طی رشد متعادل مورد نیاز نیست و ممکن است در پاسخ به محدودیت یک نوترینت سنتز بشود. نشان داده شد که سنتز بدلیل محدودیت فسفات یا غیرهوازی تحریک می شود. کاهش میزان رشد مشاهده شده وقتی فسفات باعث کاهش میزان شده بود، با سنتز عمده فیتاز همراه نبود. گرچه نمک های فوفات در نتایج ما

جرم سلول را افزایش داده است، فعالیت فیتاز در محیط کشت مایع سلولی کاهش یافت (داده ها نشان داده نشد). افزودن یون کلسیم به میزان قابل توجهی تولید انزیم را با غلظت 0.1% در محیط کشت تحریک کرده اهست. گزارش گردید که فیتاز و سبوس گندم حاوی فیتات باعث تقویت تولید فیتاز در محیط کشت سلولی مایع بروث برای Bacillus subtilis می شوند اما هیچ تاثیری بر تولید فیتاز برای سوش Bacillus sp. KHU-10 ندارد. در اشرشیا کولی، فیتات روی سنتز آنزیم تجزیه کننده فیتات اثری ندارد، اما در Klebsiella terrigena فیتاز فقط در حضور فیتات تولید می شود.

جدول 3-اثر یونهای فلزی روی فعالیت فیتاز از سوش Bacillus sp. KHU-10

Table III. Effect of Metal Ions on the Phytase Activity from *Bacillus* sp. KHU-10

Metal	Relative activity (%)	
	Without $CaCl_2$	1 mM $CaCl_2$
Control	100	100
EDTA	6	120
$BaCl_2$	35	146
$CaCl_2$	102	100
$CdCl_2$	0	0
$CoCl_2$	60	102
$CrCl_3$	45	68
$CuCl_2$	59	84
$HgCl_2$	43	73
KCl	95	102
$LiCl_2$	96	102
$MgCl_2$	85	106
$MnCl_2$	17	82
NaCl	98	101

فیتاز تخلیص شده از سوش Bacillus sp. KHU-10 دارای خواص آنزیمی مشترک با فیتازهای دیگر است، اما این آنزیم برخی تفاوت هایی را با فیتازهای سایر گونه های باسیلوس نشان می دهد. این آنزیم حداکثر فعالیت را در 60 درجه سانتیگراد بین pH برابر با 6 و 8 نشان داده است درحالیکه فیتازهای سایر گونه های Bacillus sp. حداکثر فعالیت را تحت شرایط اسیدی نشان دادند (pH برابر با 4.5 و 6) و فعالیت بالاتر از pH برابر با 6 به شدت کاهش یافت. بعلاوه، فیتازهای سایر گونه های Bacillus sp. یک درجه حرارت بهینه بالای 55 درجه سانتیگراد را نشان داده است.

جرم مولکولی ظاهری زیرواحد فیتاز تخلیص شده با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-پلی آکریل آمید تقریبا 44 kDa بود (شکل 2). توده مولکولی آنزیم بومی به وسیله کروماتوگرافی ژل کالیبره شده Sephadex G-100 به اندازه 46 kDa تعیین گردید. فیتاز خارج سلولی از A. niger دارای وزن مولکولی تقریبا 100 kDa بود. فیتاز خارج سلولی از سوش B. subtilis (natto) N-77 دارای وزن مولکولی کوچکتر (36 kDa) نسبت به نتایج ما بود. فیتاز تخلیص شده از Bacillus sp. یک نقطه ایزوالکتریک را در 6.8 نشان داده است درصورتیکه انزیم از سوش باسیلوس sp. دیگر یک نقطه ایزوالکتریک را در 6.25 نشان داد.

مقادیر Km از سایر فیتات ها بنا به گزارش در دامنه 0.08 الی 10 mM گزارش گردیده است، ولیکن مقادیر Km فیتازها برای سدیم فیتات از سوش Bacillus subtilis (natto) و Bacillus sp. DS11 بنا به گزارش به ترتیب برابر با 500 و 55µM بوده است. در سوش Bacillus sp. KHU-10 ، مقدار Km برای سدیم فیتات برابر با 50µm بوده است. فیتاز Bacillus subtilis برای تنها فیتات سدیم ویژه بود وفیتاز سوش Bacillus sp. DS11 و فیتاز سوش Bacillus subtilis (natto) N-77 بنا به گزارش یک اختصاصی بودن بالایی برای سدیم فیتات دارد. فیتاز Aspergillus ficuum دارای فعالیت ویژه وسیعی برای ترکیبات فسفریله بوده است. فیتاز KHU-10 برای تنها سدیم فیتات ویژه بوده است (جدول 2).

مشخص گردید که تعداد برگشت سدیم فیتات برای فیتاز سوش KHU-10 به اندازه 26.6 بر ثانیه بوده است. تنها داده های موجود درباره فعالیت مولکولی فیتازهای دیگر برابر با 6209 در ثانیه برای فیتاز E.coli، 368 بر ثانیه برای فیتاز گیاه کندروس ، 220 بر ثانیه برای فیتاز Aspergillus ficuum NRRL 3135، و کمتر از 10 بر ثانیه برای فیتاز لوبیای سویا بوده است. این نتایج مبین آنست که فیتاز Bacillus sp. KHU-10 برای اینوزیتول پلی فسفات ویژه بوده است. این خصوصیت باعث گردید که فیتاز KHU-10 مجزا از فیتاز Bacillus subtilis (natto) N-77 باشد.

آنزیم جداسازی شده برای فعالیت و ثباتش به کلسیم نیاز داشت. علاوه بر10mM CaCl2، یون کلسیم نه تنها بر پایداری انزیم بلکه بر فعالیت انزیم بر حسب دما و pH (شکل 2 و 3) تاثیر می گذارد.Kerovuo و همکارانش در 1998 نیز مقدار مورد نیاز یون فلزی یک فیتاز Bacillus subtilis را مورد مطالعه قرار داد. حذف یون های فلزی از آنزیم EDTA منجر به فعالسازی کامل شد. از دست دادن فعالیت انزیمی به احتمال زیاد به دلیل

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

تغییرات ساختاری بود، چون طیف های دایره ای رنگ تابی هولوآنزیم و آنزیم با از دست دادن یون فلزی متفاوت بود. آنزیم با از دست دادن یون فلزی تا اندازه ای قادر به احیای ساختار فعال هنگام انکوباسیون در حضور کلسیم بود. با سایر یون های فلزی دوظرفیتی و ترکیبات آنها، تنها واکنش جزئی تشخیص داده شد. نتیجه گرفته شد که فیتاز B. subtilis برای ساختاربندی فعال نیاز به کلسیم دارد. بااینحال، بسیاری فیتازهای دیگر آنزیم فلزی نیستند. قوی ترین مهارکننده های فیتازهای دیگر Cu^{2+}، Zn^{2+}، فلوراید، مولیبدات، وانادات و فسفات هستند. خصوصیات فیتاز از سوش Bacillus sp. KHU-10 برای استفاده این انزیم در افزایش قابلیت دسترسی به فیتات فسفات و مواد معدنی در غذا و علوفه به غیرنشخوارکنندگان مطلوب بوده است. کار بیشتری در دست است تا ساختار فیتاز را روشن سازد و انزیم ها را روشن سازد.

REFERENCES

Ahmad, T., Rasool, S., Sarwar, M., Haq, A. U., and Hasan, Z. U. (2000). *Anim. Feed Sci. Tech.* **83**, 103–114.

Choi, Y. M., Noh, D. o., Cho, S. H., Lee, H. K., Suh, H. J., and Chung, S. H. (1999). *J. Microbiol. Biotech.* **9**, 223–226.

Dvorakova, J., Volfova, O., and Kopecky, J. (1997). *Folia Microbiol.* **42**, 349–352.

Gibson, D. M. and Ullah, A. H. J. (1988). *Arch. Biochem. Biophys.* **260**, 503–513.

Greiner, R., Konietzny, U., and Jany, K. D. (1993). *Arch. Biochem. Biophys.* **303**, 107–113.

Greiner, R., Haller, E., Konietzny, U., and Jany, K. D. (1997). *Arch. Biochem. Biophy.* **341**, 201–206.

Han, Y. W. and Gallagher, D. J. (1987). *J. Ind. Microbiol.* **2**, 295–301.

Irving, G. C. J. (1980). In *Inositol Phosphates: Their Chemistry, Biochemistry, and Physiology* (Cosgrove, D. J., ed.), Elsevier Press, Amsterdam, pp. 85–98.

Kerovuo, J., Lauraeus, M., Nurminen, P., Kalkkinen, N., and Apajalahti, J. (1998). *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 2079–2085.

Kim, D. S., Godber, J. S., and Kim, H. R. (1999). *Biotechnol. Lett.* **21**, 1077–1081.

Kim, Y. O., Kim, H. K., Bae, K. S., Yu, J. H., and T. K. (1998). *Enzyme Microbiol. Technol.* **22**, 2–7.

Konietzny, U., Greiner, R., and Jany, K. (1995). *J. Food Biochem.* **18**, 165–183.

Martinez, C., Ros, G., Periago, M. J., Lopez, G., Ortuno, J., and Rincon, G. (1996). *Food Sci. Technol. Int.* **2**, 201–209.

Mayer, A. F., Hellmuth, K., Schlieker, H., Lopez-Ulibarri, R., Oertel, S., Dahlems, U., Strasser, A. W. M., and van Loon, A. P. G. M. (1999). *Biotechnol. Bioeng.* **63**, 373–381.

Nayini, N. R. and Markakis, P. (1986). In *Phytic acid; Chemistry and Applications* (Graf, E., ed.), Pilatus Press, Mineapolis, MN, pp. 101–118.

Pandey, A., Szakacs, G., Soccol, C. R., Rodriguez-Leon, J. A., and Soccol, V. T. (2001). *Bioresource Technol.* **77**, 203–214.

Powar, V. K. and Jagannathan, V. (1982). *J. Bacteriol.* **151**, 1102–1108.

Shimizu, M. (1992). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **56**, 1266–1269.

Sreeramulu, G., Srinivasa, D. S., Nand, K., and Joseph, R. (1996). *Lett. Appl. Microbiol.* **23**, 385–388.

Sztajer, H., Lnsdorf, H., Erdmann, H., Menge, U., and Schmid, R. (1992). *Biochim. Biophys. Acta* **1124**, 253–261.

Ullah, A. H. J. (1988). *Prep. Biochem.* **18**, 459–471.

برای خرید فرمت ورد این ترجمه، بدون واتر مارک، اینجا کلیک نمائید.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی