

عنوان مقاله:

جهش زایی هدفمند T312R و F260R جایگاه فعال آنزیم فیتاز پرسینیا اینترمدیا و بررسی جهش های حاصل بر ویژگیهای سینتیکی آنزیم

محل انتشار:

هجدهمین کنفرانس بین المللی پژوهش های نوین در علوم و فناوری (سال: 1398)

تعداد صفحات اصل مقاله: 1

نویسندگان:

منصوره قربانی - کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه دولتی شهرکرد

روح اله همتی - دکتری بیوشیمی، استادیار بیوشیمی، هیئت علمی دانشگاه دولتی شهرکرد، چهارمحال بختیاری، ایران

بهناز صفار - دکتری سلولی مولکولی، استادیار سلولی و مولکولی، هیئت علمی دانشگاه دولتی شهرکرد، چهارمحال بختیاری، ایران

خلاصه مقاله:

اسید فیتیک فرم اصلی ذخیره فسفر در دانه های گیاهی است. تقریباً 75٪ فسفر غلات، بقولات و دانه های روغنی از نوع اسید فیتیکی می باشد. تک معده ای ها مانند ماکیان، خوک ماهی و انسان به دلیل فقدان یا مقدار ناکافی آنزیم های تجزیه کننده فیتات در دستگاه گوارش قادر به استفاده از این شکل آلی فسفر نیستند به علاوه اسید فیتیک، مواد معدنی ضروری مانند Fe, Mg, Ca, Zn را شلاته می کند، به آمینواسیدها و پروتئین ها متصل شده و از عمل آنزیم های هضم مثل آمیلاز، لیپاز، پیپسین، تریپسین، کیمو تریپسین و تیروزیناز جلو گیری می کند و از این رو باعث کاهش قابلیت هضم پروتئین ها و کربوهیدرات ها و لیپیدها می شود. فیتاز (مبو اینوزیتول هگزا کیس فسفات، فسفو هیدرولاز) آنزیمی است که فیتیک اسید را به اینوزیتول و فسفر هیدرولیز میکند و باعث کاهش یون های شلاته شده می شود. فیتازها معمولاً قادرند 3 تا 5 گروه فسفات، از مولکول فیتات را آزاد نمایند. فیتازهای باکتریایی و قارچی به خاطر داشتن یکسری ویژگی های منحصر بفرد مورد توجه خاصی قرار گرفته اند. پرسینیا اینتر مدیا در بین همه فیتازها، فعالیت اختصاصی بالایی دارد. این فیتاز دارای مزیت هایی نظیر پایداری در pH اسیدی و دمای بالا است که نقش ضروری آن را به عنوان مکمل غذایی نشان می دهد. جهش زایی، فرایند ایجاد تغییرات اختصاصی در ساختار یک ژن می باشد. روش Quick Change PCR - به طور گسترده ای در تحقیقات جهش زایی هدفمند مورد استفاده قرار می گیرد که در این تحقیقات از جفت پرایمرهای مکمل طی واکنش های PCR استفاده می شود. DNA های متیله شده و الدی توسط آنزیم محدود کننده Dnp قابل حذف و جداسازی از زنجیره های متیله نشده و تازه سنتز شده می باشند. DNA تازه سنتز شده ی جهش یافته دارای برشی در طول خود است که پس از انتقال، توسط سیستم تعمیری میزبان قابل اصلاح است. نیاز شدید به تولید فیتاز در مقیاس بزرگ و صنعتی و نیز ضرورت بهینه سازی پایداری حرارتی آن و افزایش مقاومت آن در برابر pH اسیدی، ما را بر آن داشت تا این پژوهش را با هدف ایجاد جهش در ژن فیتاز با استفاده از روش جهش زایی Quick-Change PCR ایجاد و به بررسی تغییرات حاصل بر ویژگی های سینتیکی آنزیم بپردازیم. در همین راستا و با توجه به نقش پایدار کننده آرژنین در پروتئین های ترموفیل، می توان با ایجاد بارهای مثبت سطحی آرژنین در ساختار آنزیم فیتاز گونه ی *Yersinia intermedia*، پایداری این آنزیم را افزایش داد؛ بنابراین با توجه به بررسی های بیوانفورماتیکی، شبیه سازی و داکینگ انجام شده در جایگاه T312R و F260R جهت جهش زایی انتخاب شدند.

کلمات کلیدی:

لینک ثابت مقاله در پایگاه سیویلیکا:

<https://civilica.com/doc/1010508>



