

植酸酶多样性及其分类

李晓龙^{1,2} 杨合同^{1,2*} 扈进冬² 吴远征² 李纪顺² 任艳²

(1. 山东理工大学生命科学院 山东 淄博 255049)

(2. 山东省科学院生物技术中心 山东省应用微生物重点实验室 山东 济南 250014)

摘要: 植酸酶是一类催化植酸水解逐步释放磷酸基团形成低级肌醇磷酸衍生物的正磷酸单酯磷酸水解酶。植酸酶在动物营养、资源环境保护和人类健康等领域有巨大的应用潜力。目前,人们对植酸酶的多样性及其分类的认识比较模糊甚至错误,严重影响了植酸酶的研究进程和水平。首先简要概述了基于最适 pH 和立体专一性的植酸酶分类,然后着重论述了基于结构和催化机理的植酸酶分类及其代表酶特征的最新研究进展,最后探讨了根据不同分类标准特别是基于结构和催化机理准确理解和全面表征各种植酸酶的重要性,以期为植酸酶的研究和应用提供参考。

关键词: 植酸酶, 最适 pH, 立体专一性, 结构和催化机理, 分类

Diversity and Classification of Phytases

LI Xiao-Long^{1,2} YANG He-Tong^{1,2*} HU Jin-Dong² WU Yuan-Zheng²
LI Ji-Shun² REN Yan²

(1. School of Life Sciences, Shandong University of Technology, Zibo, Shandong 255049, China)

(2. Shandong Provincial Key Laboratory for Applied Microorganism, Biotechnology Center, Shandong Academy of Sciences, Jinan, Shandong 250014, China)

Abstract: Phytase is a type of orthophosphomonoester phosphohydrolase, which catalytically initiates step-wise hydrolysis of phytic acid to release phosphate radicals and produce lower inositol phosphate derivatives. Phytase has great application potential in the areas of animal nutrition, resource conservation, environmental protection and public health. At present, the understanding in phytase diversity and classification is so confusing or even inaccurate that the research progress and level of phytase has been badly affected. In this paper, the phytase classification based on optimal pH and stereospecificity is briefly introduced first, and then the updated research advance in phytase classification based on structure and catalytic mechanisms and the attributes of the representative phytases are summarized and discussed comprehensively. It is of vital importance to take into consideration the classification standards especially to focus on structure and catalytic mechanisms when a given phytase could be fully and accurately understood and characterized.

Keywords: Phytase, Optimal pH, Stereospecificity, Structure and catalytic mechanisms, Classification

植酸(Phytic acid 或 Phytate), 即肌醇六磷酸(myo-Inositol hexakisphosphate, IP6), 是植物种子中

磷元素的主要储存形式, 普遍存在于植物性食品和饲料^[1]。人和单胃动物畜禽和鱼类等缺乏内源性植

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2006AA10A211)

* 通讯作者: Tel: 86-531-82605386; Fax: 86-531-82965636; ✉: yanght@keylab.icm.cas.cn 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>
收稿日期: 2009-08-24; 接受日期: 2010-01-18

酸酶不能利用有机植酸磷^[2]。饲料中常添加无机磷酸盐以满足单胃动物的磷营养需求,随之产生了诸多问题:首先,特别是在集约化养殖区,畜禽排泄物中未利用的植酸磷被微生物降解释放无机磷易引发水体磷污染^[3];其次,作为一种不可再生资源,额外添加昂贵的无机磷酸盐造成饲料成本增加并加剧了磷矿资源危机^[4-5];另外植酸是一种抗营养因子,在体内络合多种矿质元素和蛋白质等,常引起人和单胃动物各种营养不良症^[6-7]。

植酸酶(Phytase, Phy),即肌醇六磷酸磷酸水解酶(*myo*-Inositol hexakisphosphate phosphohydrolase)是一类特殊的正磷酸单酯磷酸水解酶,催化植酸水解生成低级肌醇磷酸衍生物和无机磷酸^[8]。Suzuki 等人于 1907 年首先在植物中发现植酸酶,从此人们对各种来源的植酸酶进行了广泛调查^[9]。植酸酶普遍存在于植物、真菌、酵母和细菌,其中微生物植酸酶因活性高、生产比较容易等诸多优点,对其研究和开发最为广泛和深入^[10]。植酸酶在动物营养、资源环境保护和人类健康等领域愈来愈显示出巨大的应用潜力和研究价值。目前已经分离和鉴定了各种产植酸酶微生物及其基因,阐明了部分植酸酶的分子结构和催化功能关系,几种植酸酶制剂已经商品化并应用于生产。随着研究的继续,以及政府的大力支持,各国研究人员正在竞相开发高活性、抗逆和安全等性质更加优良的微生物植酸酶。

“植酸酶”是一个广义概念,不同来源的植酸酶多种多样,可基于不同标准对其进行分类。根据最适 pH 可分为酸性植酸酶(Acidic phytase)和碱性植酸酶(Alkaline phytase);根据立体专一性可分为 3-植酸酶(3-Phytase, EC 3.1.3.8)、6-植酸酶(6-Phytase, EC 3.1.3.26)和 5-植酸酶(5-Phytase, EC 3.1.3.72);根据结构和催化机理可分为组氨酸酸性磷酸酶植酸酶(Histidine acid phosphatase phytase, HAPhy)、 β -螺旋桨植酸酶(β -Propeller phytase, BPP)、半胱氨酸磷酸酶植酸酶(Cysteine phosphatase phytase, CPhy)和紫色酸性磷酸酶植酸酶(Purple acid phosphatase phytase, PAPhy)。目前国内外植酸酶研究非常多,但是很多研究者对植酸酶的界定和特征并无清晰的概念,对植酸酶多样性及其分类的认识比较模糊甚至错误,严重影响了植酸酶的研究进程和水平。科学客观地对各种植酸酶进行表征和归类,有非常重

要的实践意义和理论价值。本文拟首先简要概述基于最适 pH 和立体专一性的植酸酶分类,然后着重论述基于结构和催化机理的植酸酶分类及其代表酶特征的最新研究进展,最后探讨根据不同分类标准特别是基于结构和催化机理准确理解和全面表征各种植酸酶的重要性。

1 基于最适 pH 和立体专一性的植酸酶分类

最适 pH 是各种酶的基本属性之一。根据最适 pH,植酸酶可分为酸性植酸酶和碱性植酸酶。真菌、酵母以及绝大多数细菌和植物都产酸性植酸酶。研究最深入的黑曲霉 *Aspergillus niger* NRRL 3135 菌株产生 PhyA 和 PhyB 两种植酸酶,PhyA 有 2 个最适 pH 分别为 2.5 和 5.0,PhyB 最适 pH 为 2.5^[11],大肠杆菌(*Escherichia coli*)植酸酶 AppA 最适 pH 为 2.5^[12]。少部分细菌和植物产中性或偏碱性植酸酶,如左旋乳酸芽孢杆菌(*Bacillus laevolacticus*)热稳定植酸酶最适 pH 为 7.0-8.0^[13],百合(*Lilium*)花粉碱性植酸酶最适 pH 为 8.0^[14]。为了适应畜禽胃肠酸性环境,酸性植酸酶一直受到研究者的青睐和开发。商品名为自然磷(Natuphos)的 *A. niger* (*ficuum*) NRRL 3135 菌株的 PhyA 植酸酶为首个上市的饲用植酸酶制剂,能显著降低猪和家禽粪便的磷水平^[15]。然而大多数鱼类胃肠呈中性偏碱,故碱性植酸酶则更为有效,近几年在水产业上受到重视^[16]。

因植酸分子的特殊立体构象,植酸酶开始水解植酸具有立体专一性(Stereospecificity)。植酸分子由肌醇环和 6 个磷酸基团通过磷酸单酯键连接构成。立体构象中,5 个磷酸基团处于对称平面位置,剩下的 1 个磷酸基团处于垂直轴向位置。根据 Agranoff 法则,肌醇环上 6 个碳原子编码顺序是轴向羟基所处碳原子为 C2,植酸分子中共面的 5 个磷酸基团所处碳原子逆时针依次编码(图 1)^[17-18]。根据立体专一性,国际纯粹与应用化学联合会-国际生物化学与分子生物学联合会(IUPAC-IUBMB)目前承认了 3 类植酸酶:3-植酸酶、6-植酸酶和 5-植酸酶。3-植酸酶水解植酸时首先释放 C3 位的磷酸基团,随后释放其它磷酸基团,6-植酸酶和 5-植酸酶分别从 C6 和 C5 位开始水解植酸。绝大多数微生物和植物分别产 3-植酸酶和 6-植酸酶。如 *A. niger* 和土壤中的克雷伯

菌 *Klebsiella* sp. ASR1 菌株^[19-20]、卡氏德巴利酵母 *Debaryomyces castellii* CBS 2923 菌株等都产 3-植酸酶, 水解植酸终产物为 2-磷酸肌醇单酯^[21]。Greiner 等研究了面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)植酸酶的植酸降解途径, 依次从 C3、C4、C5、C6、C1 位游离磷酸基团生成 I (2) P^[22]。但例外的是 *E. coli* 和 Greiner 等报道的一株马来群岛废水细菌^[23-24]、隔孢伏革菌(*Peniophora lycii*)等担子菌产生 6-植酸酶^[25], 而羽扇豆(*Lupinus polyphyllus*)产生 3-植酸酶^[26]。5-植酸酶仅存于少数细菌和植物, 如瘤胃微生物反刍月形单胞菌 *Selenomonas ruminantium* subsp. *Lactilytica* 菌株的植酸酶依次从植酸 C5、C4、C6、C3、C1 位释放磷酸基团, 终产物为 I (2)P^[27]。百合花粉碱性植酸酶首先水解 C5 位磷酸基团, 然后水解相邻的 C4 和 C6 位磷酸基团, 终产物为 I (1, 2, 3) P^[28]。需要注意的是, 所有植酸酶偏好共面的 5 个磷酸基团, 而一般不能释放 C2 位轴向的磷酸基团^[29]。

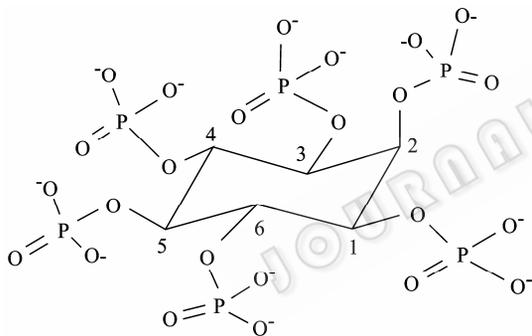


图1 植酸分子的立体构象

Fig. 1 Conformation of phytic acid molecule

最适 pH 和立体专一性是植酸酶的传统分类标准, 长期为许多学者接受, 在指导人们认识和应用植酸酶的过程中起到了积极作用。然而根据生物大分子结构决定功能的普遍原理, 最适 pH 和立体专一性并不能从本质上反映植酸酶本身的分子结构和催化功能关系, 因此研究植酸酶的结构和催化机理显得尤为必要。

2 基于结构和催化机理的植酸酶分类

在过去的二十几年, 利用 X-射线晶体衍射、分子生物学和生物信息学等技术手段, 研究者在阐明植酸酶的高级结构和催化功能关系方面做了大量卓

有成效的工作。现在知道, 并非所有的植酸酶具有相似的结构和相同的催化机理。根据最新研究进展, 目前确认了 4 类结构悬殊的植酸酶: 组氨酸酸性磷酸酶植酸酶(HAPhy)、 β -螺旋桨植酸酶(BPP)、半胱氨酸磷酸酶植酸酶(CPhy)和紫色酸性磷酸酶植酸酶(PAPhy), 它们水解植酸的催化机理各不相同。

2.1 组氨酸酸性磷酸酶植酸酶(HAPhy)

HAPhy 属于组氨酸酸性磷酸酶(Histidine acid phosphatase, HAP)家族, 在自然界分布非常普遍。它是目前所知最大的植酸酶类群, 广泛存在于真菌、酵母、绝大多数细菌和植物。下面以迄今研究最深入的几个植酸酶为代表, 从 3 个重要方面阐明 HAPhy 的结构和催化功能关系。

2.1.1 催化部位和催化机理: HAP 是酸性磷酸酶的一个庞大家族, 能水解一系列不同底物。HAP 所有成员具有共同的催化部位和催化机理, 催化部位氨基酸序列由 N-末端基元 RHGXRXP 和 C-末端基元 HD 组成^[30]。正确折叠时这两个远距离基元会聚形成 1 个特异的催化中心, 发动 1 个两步反应水解磷酸单酯^[31]。N-末端基元 RHGXRXP 中的组氨酸(H)残基亲核攻击磷酸基团形成一个共价磷酸-组氨酸中间体, 然后 C-末端基元 HD 中的天冬氨酸(D)残基向即将断裂的磷酸单酯键的氧原子提供质子, 磷酸-组氨酸中间体水解消耗一分子水游离出磷酸基团, 整个反应过程无需金属离子参与^[31]。然而并非所有的 HAP 都能降解植酸, Oh 等提议用 HAPhy 来表示能特异水解植酸的 HAP^[32]。

通过研究植酸酶的蛋白质结构, 目前主要以产植酸酶最为普遍的真核类 *Aspergillus* 和原核类 *E. coli* 为代表揭示了 HAPhy 的催化机理, 它们都具有保守催化基元 RHGXRXP 和 HD, 尽管真核和原核间 HAPhy 序列其余部分几乎没有相似性。HAPhy 的特征催化基元及其催化机理的揭示, 为后来人们筛选产植酸酶微生物和研究其酶学性质提供了重要指导。为了满足生产中对植酸酶的各种特殊要求, 随着研究的继续, 产生该类植酸酶的各种新发现微生物的报道层出不穷。Luo 等分离自无丙二酸柠檬酸杆菌 *Citrobacter amalonaticus* CGMCC 1696 菌株的植酸酶 AppA, 分子大小 46.3 kD, 最适 pH 和温度分别为 4.5 和 55°C, 抗胃蛋白酶和胰蛋白酶^[33], 在饲料工业中具有应用前景。Li 等克隆表达了海洋酵母

奥默柯达菌 *Kodamaea ohmeri* BG3 菌株的植酸酶, 其推断的氨基酸序列包含 HAPhy 特征催化基元, 分子大小 51 kD, 最适 pH 和温度分别为 5.0 和 65°C^[34]。Fugthong 等在毕赤酵母(*Pichia pastoris*)表达的微小青霉 *Eupenicillium parvum* BCC 17694 菌株的植酸酶, 具有 HAPhy 典型的大 α/β 结构域和小 α 结构域, 最适 pH 和温度分别为 5.5 和 50°C, 降解植酸的效率和商品植酸酶制剂 Natuphos 相当^[35]。

作者所在课题组对目前国内外鲜有报道的丝状真菌木霉(*Trichoderma* spp.)植酸酶进行了初步研究。我们发现从土壤中筛选的多株木霉能在含有植酸钙的筛选培养基平板上产生明显水解圈, 这表明木霉具有较强的植酸酶活性。目前我们已经得到多个木霉植酸酶完整基因, 序列比对发现与曲霉植酸酶具有相似性。木霉植酸酶基因的推断氨基酸序列 N-末端包含 HAP 的特征催化部位基元 RHGXRP, 但 C-末端的保守基元为 HE, 不同于 HAP 的 C-末端特征活性部位基元 HD, 即谷氨酸(E)残基替代了后者中的天冬氨酸(D)残基。鉴于这两个残基都为酸性负电性氨基酸, 我们推测其催化功能不变(未发表资料)。下一步我们将对木霉植酸酶进行表达纯化, 系统研究其酶学特性并阐明其结构和催化功能关系, 以期对木霉植酸酶的开发提供理论依据。

2.1.2 底物特异性部位: 研究表明, 酶的活性部位由催化部位和底物结合部位两部分构成, 前者负责底物键的断裂或形成, 而后者负责与底物结合, 决定酶的专一性。因此底物结合部位或称底物特异性部位(Substrate specificity site, SSS)是酶的另一个关键功能部位, 它在酶和底物诱导契合的过程中起重要作用。植酸是一个高度负电性底物, 作用于它的酶必须能适应该特点。为了有利于底物结合, 只有底物结合部位在酸性条件带正电时 HAP 才能水解植酸分子。Kostrewa 等鉴定了 *A. niger* PhyA 植酸酶中环酶活性部位的 SSS 及其氨基酸组成, 包含 2 个酸性残基和 4 个碱性残基: K91、K94、E228、D262、K300 和 K301^[36]。在第 1 个最适 pH 2.5 时 4 个碱性氨基酸都带正电吸引植酸分子, 在第 2 个最适 pH 5.0 时 SSS 的局部静电场仍吸引植酸, 这可以解释 *A. niger* PhyA 植酸酶具有 2.5 和 5.0 两个最适 pH 的特殊现象。

酶对各种底物表现不同程度的底物特异性。

Wyss 等把所有已知的微生物 HAPhy 分成了两大类: 第 1 类有宽的底物谱但对植酸比活低, 而第 2 类底物谱窄但对植酸高度特异^[37]。Mullananey 等发现组成 *A. niger* PhyA 植酸酶的 SSS 的 300 位氨基酸残基对其降解效率具有重要影响, 并且该残基高度变异, 而 301 位为赖氨酸(K)非常保守^[38]。*A. niger* PhyA 植酸酶在 300 位是一个碱性或酸性残基, 而低比活的植酸酶相应位置是一个中性残基, 定点突变证实 K300 对酶比活具有重要贡献^[38]。

在 *A. niger* 的第 2 个植酸酶 PhyB 中, 也证实 SSS 在决定酶最适 pH 和底物特异性方面起重要作用。据报道 PhyB 仅存于 *A. niger*, 最适 pH 2.5, 在 pH 5.0 不能水解植酸, 此即当初研究者称之为 pH 2.5 酸性磷酸酶的缘故^[39]。PhyB 具有 HAP 的特征催化基元, 但它的 SSS 却与 PhyA 截然不同。Kostrewa 等鉴定 PhyB 的 SSS 仅由 D75 和 E272 两个酸性氨基酸构成^[40]。在 pH 2.5 时 PhyB 的 SSS 是一个不带电的中性静电场, 能接受多种磷酸单酯, 对植酸分子特异性较低。而在 pH 5.0 时 2 个酸性残基都带负电, 与负电性植酸相互排斥。因此, PhyB 的 pH 分布及其与植酸的相互作用和 PhyA 相比明显不同, 而 PhyA 的 SSS 正电性静电场特别适应高度负电性的植酸分子。

所以, SSS 对酶水解植酸的效率具有重要影响。SSS 中的氨基酸残基通过占据与催化结构域邻近的部位, 选择允许通过并与催化部位残基相互作用的偏好性底物。通过定点突变可以改变 SSS 的氨基酸组成从而改变酶的 pH 分布和底物特异性, 以适应饲料和食品工业等对植酸酶制剂的特殊要求^[41-42]。

2.1.3 糖基化和二硫键: 研究表明, 糖基化和二硫键对 HAPhy 的功能活性也具有重要影响。糖基化是真核系统蛋白质翻译后修饰的一种最为常见的形式, 能协助 HAPhy 正确折叠并赋予稳定性^[43-44]。目前所表征的真菌、酵母和植物来源的 HAPhy 都为糖蛋白。研究最深入的 *A. niger* NRRL 3135 菌株的 PhyA 植酸酶是一个高度糖基化的蛋白, 有 10 个 N-糖基化位点^[45]。然而, 例外的是 Quan 等从气生真菌枝孢菌 *Cladosporium* sp. FP-1 菌株分离的一个 32.6 kD 低分子量 HAPhy 为非糖基化蛋白^[46]。各种细菌来源的 HAPhy 均为非糖基化蛋白。另外二硫键在稳定 HAPhy 正确的三维结构确保催化活性上也担当重要

角色。Mullaney 等通过氨基酸顺序分析发现,所有的真菌 HAPhy 都具有 8 个半胱氨酸的保守基元,在折叠过程中形成 4 个二硫键。并且在所有丝状子囊菌 HAPhy 的 N-末端额外的 2 个半胱氨酸形成第 5 个二硫键,如 *A. niger* 和 *A. fumigatus* 的 PhyA 植酸酶包含 5 个二硫键^[47]。*E. coli* 植酸酶 AppA 包含 3 个连续和 1 个非连续共 4 个二硫键,然而 C200N 定点突变破坏对应二硫键后酶活性反而增强,推测该二硫键的去除使得 AppA 的结构域柔性增大,故催化效率提高^[48-49]。

2.2 β -螺旋桨植酸酶(BPP)

BPP 属于一类全新的碱性磷酸酶,与此前所有已知的磷酸酶没有相似性。BPP 首先分离自芽孢杆菌(*Bacillus*),如典型的枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)植酸酶 PhyC 和淀粉液化芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)热稳定植酸酶 TS-Phy^[50]。BPP 的得名缘于其高级结构主要由 β -折叠片(β -Pleated sheet)组成,类似一个六叶螺旋桨(Six-bladed propeller)^[51]。

BPP 的特殊结构决定了其独特的催化机理。研究表明, BPP 对植酸高度特异,催化活性和热稳定性都必须依赖 Ca^{2+} ^[52]。在 pH 7.0-8.0,植酸分子相邻的 2 个磷酸基团与位于 BPP 活性中心的 Ca^{2+} 形成 P- Ca^{2+} -P 复合结构,产生一个有利的静电环境介导酶和底物的结合^[53],然后 BPP 水解钙-植酸复合物。Shin 等研究 BPP 的催化机理发现, BPP 具有 2 个不对等的磷酸基团结合部位,“切割部位”(Cleavage site, CS)和“亲和部位”(Affinity site, AS)。AS 促进植酸分子结合,而 CS 负责水解磷酸基团^[54]。该模型很好地解释了 BPP 对植酸分子的高度特异性,因为植酸分子 2 个相邻的磷酸基团必须同时分别占据 AS 和 CS,然后释放 CS 上的磷酸基团,所以 IP6 相间游离磷酸基团,终产物为 IP3。Greiner 等研究了不同来源 BPP 的植酸去磷酸化途径,结果表明所有 BPP 具有相同的立体专一性,相间释放植酸分子的磷酸基团,依次生成 I(1, 2, 4, 5, 6)P5、I(2, 4, 5, 6)P4、I(2, 4, 6)P3^[55]。BPP 水解植酸形成 IP3 反应迅速,但此后由于缺少相邻的磷酸基团,IP3 不能进一步被 BPP 水解。

BPP 因 pH 范围偏碱性、对植酸高度特异、 Ca^{2+} 依赖性和热稳定性等特点,一直受到广泛关注和调查。Chatterjee 等鉴定了病原细菌水稻黄单胞菌

Xanthomonas oryzae pv. *Oryzae* 菌株的一个与其致病力和植酸利用有关的蛋白,大小约 38 kD。以 *Bacillus* 植酸酶为模板同源模建表明,它具有六叶螺旋桨高级结构和活性部位保守氨基酸残基,靶基因突变体丧失致病性,原因是不能利用寄主水稻植酸而缺乏磷营养^[56]。Gulati 等研究了根围土壤细菌 *B. laevolacticus* 的碱性植酸酶,其最适温度 70°C,最适 pH 7.0-8.0,在 pH 8.0、70°C 保温 3 h,酶活残留约 80%,耐热性较好^[13]。为了与 HAPhy 类比,Cheng 等调查了二硫键对 BPP 构象和活性的可能影响,结果发现 G⁺细菌 BPP 不存在二硫键,而 G⁻细菌 BPP 中的半胱氨酸残基也不形成二硫键。原因分析表明 *Bacillus* 缺乏周质空间,而且 *Bacillus* 的 BPP 胞外释放可能使得二硫键的存在没有必要,所以在进化中 *Bacillus* 的 BPP 不存在二硫键^[57]。

一直以来所调查和研究的各种植酸酶主要来源于陆地生境,然而近几年的几项调查发现, BPP 在水生环境细菌中的存在非常普遍。而且 BPP 是唯一同时存在于陆生和水生环境细菌中的植酸酶种类,在生物圈磷循环中具有重要作用^[16,58-59]。Huang 等从冰河土分离的 *Pedobacter nyackensis* MJ11 CGMCC 2503 菌株产生的 BPP,与 *Bacillus* 的 BPP 相似度约 28.5%,对植酸高度特异,最适 pH 和温度分别为 7.0 和 45°C,在 25°C 中性环境活性在 50% 以上,而 *Bacillus* 来源的 BPP 在相同条件下活性不到 8%,表明它在水产业中具有潜在应用价值^[60]。

豆类种子和百合花粉的碱性植酸酶对植酸分子特异性高、催化活性依赖 Ca^{2+} 以及水解植酸的终产物为 IP3^[61-62],这些特性与 BPP 极为相似。然而 Garchow 和 Mehta 等最新研究发现, *L. longiflorum* 花粉碱性植酸酶是一个大小约 118 kD 的同二聚体,其基因的推断氨基酸序列包含 HAP 的 RHGXRXP 特征基元,但与真菌 HAPhy 的相似度只有 25%^[63-64]。所以植物碱性植酸酶既表现 BPP 的反应特性又具有 HAPhy 的序列特征,将两类完全不同的植酸酶有机地联系起来。然而这些研究结果和证据还非常有限,有必要继续做深入和广泛研究。

因为绝大多数水生动物的胃肠偏碱性以及水产品时下受人们青睐,所以碱性植酸酶制剂研发在水产养殖领域具有广阔的应用前景。

2.3 半胱氨酸磷酸酶植酸酶(CPhy)

CPhy 属于半胱氨酸磷酸酶(Cysteine phosphatase, CP)超家族, 目前发现仅存于瘤胃微生物^[65]。单胃动物缺乏内源性植酸酶不能利用植酸, 然而反刍动物胃肠的植酸酶活性本质上源于瘤胃细菌。Yanke 等调查厌氧瘤胃微生物时首先发现一株 *S. ruminantium* 具有植酸酶活性。初步研究表明该植酸酶是一个单体蛋白, 大约 46 kD, 最适 pH 4.0–4.5, 最适温度 50°C–55°C, 受 Fe²⁺ 等几种金属离子的抑制^[66]。随后的蛋白晶体结构和催化机理研究揭示该植酸酶既不属于 HAPhy 也不属于 BPP, 而是 CP 超家族的一个成员, 它的推断氨基酸序列包含活性部位基元 HCXXGXXR (T/S), 并且与 CP 类群的成员蛋白酪氨酸磷酸酶(Protein tyrosine phosphatase, PTP)具有显著相似性^[67], 活性部位形成一个含保守半胱氨酸(C241)的磷酸基团结合环(Phosphate-binding loop, P-loop), 其中 C241 的不可逆氧化使得 P-loop 由非活性的开放构象转变为活性的闭合构象^[68]。P-loop 充当 PTP 特异底物的结合口袋, 口袋的深度决定底物的特异性。与模式 *S. ruminantium* 植酸酶一致, CPhy 有一个相比 PTP 更深的口袋, 能适应植酸分子充分磷酸化而呈负电性的肌醇环, 有利的静电环境促进容纳底物植酸分子。但 CP 类群的其它成员缺乏降解植酸的能力。

Puhl 等研究了 *S. ruminantium* subsp. *Lactilytica* 菌株的 CPhy (PhyAsrl), 它与厌氧 *S. ruminantium* 的 CPhy 氨基酸序列相似度为 35%, 最适 pH 为 4.5, 最适温度 55°C, 为 5-植酸酶, 水解植酸终产物为 I (2) P^[27]。和 HAPhy 一样, CPhy 受 Fe²⁺ 和其他几种金属离子(Cu²⁺、Zn²⁺ 和 Hg²⁺)抑制, 原因是金属离子与植酸的螯合阻碍了底物与酶的结合, 然而 Pb²⁺ 对 CPhy 的激活作用仍无法解释^[69]。

瘤胃微生物是生活在反刍动物胃肠的一类有益共生菌, 所分泌的植酸酶和纤维素酶等在反刍动物的营养利用中起重要作用。Hong 等利用 *S. ruminantium* 植酸酶基因 *SrP6* 构建的转基因水稻, 其萌发种子在 pH 2.0–6.0 时的植酸酶活性是非转化子的 40–60 倍^[70], 这为单胃动物饲料开发开辟了新的思路。

2.4 紫色酸性磷酸酶植酸酶(PAPhy)

PAPhy 属于紫色酸性磷酸酶(Purple acid phos-

phatase phytase, PAP)金属磷酸酯酶类群, 目前仅在植物中发现, 几种微生物 PAP 并无植酸酶活性。PAP 金属磷酸酯酶类群所有成员包含特有的 7 个金属配合氨基酸残基, 7 个残基(D、D、Y、N、H、H、H)包含在 5 个保守基元(DXG/GDXXY/GNH(ED)/VXXH/GHXH)^[71]中。PAP 金属磷酸酯酶广泛分布于植物、哺乳动物、真菌和细菌。动物 PAP 包含一个 Fe (III)-Fe (II)双核金属中心, 而植物 PAP 中的 Fe (II)被 Zn²⁺ 或 Mg²⁺ 等替代^[72]。植物 PAP 分为两类: 小单体蛋白(约 35 kD)和大同二聚体蛋白(约 55 kD)。和 HAP 和 CP 一样, 并非所有的 PAP 都能降解植酸。Hegeman 等在萌发大豆(*Glycine max*)秧苗子叶中报道了首个被鉴定为植酸酶的双核金属水解酶 GmPhy^[73]。序列分析表明, GmPhy 和其他植物 PAPhy 与植物 PAP 相似。Lung 等纯化并鉴定了磷饥饿响应烟草(*Nicotiana tabacum*)根部分泌的 PAPhy, 分子大小约 56 kD, 与几种植物 PAP 高度相似, 最适 pH 5.0–5.5, 最适温度 45°C, 在动员土壤有机磷时发挥重要作用^[74]。Kuang 等在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中发现了一个与大豆和烟草 PAPhy 具有同源性的 PAP 样蛋白 AtPAP15, 它的底物谱比较宽, 植酸酶活性中等, 在种子和花粉萌发时产生^[75]。另外, Zhang 等通过靶基因定点突变和基因重组研究发现, 具有植酸酶活性的 AtPAP15 能够降低叶部植酸的含量, 提高抗坏血酸的含量而促进植株生长^[76], 原因是酶解产生的肌醇是植物中抗坏血酸生物合成的前体。所以 PAPhy 在这些植物的生命活动中具有重要作用。

真菌 *A. niger* 的 pH 6.0 酸性磷酸酶(Apase6)属于 PAP, 但它不能水解植酸^[77]。比较 *A. niger* Apase6 和植物 PAPhy 的活性部位, 发现它们都包含活性部位保守基元, 推测植物 PAPhy 可能是通过自然进化从而获得植酸酶活性^[78]。此外, Lim 等研究发现细菌麝香伯克氏菌(*Burkholderia cenocepacia*)的 PAP 也无植酸酶活性^[58]。目前还没有 PAPhy 的 X-射线晶体研究及其活性部位与植酸分子相互作用的相关资料。

尽管 PAP 在植物、哺乳动物、真菌和细菌中广泛分布, 但至今尚未在微生物中发现具有植酸酶活性的 PAP 即 PAPhy, 故有必要调查可能具有 PAPhy 的微生物资源或者深入研究该现象背后的

可能原因。

3 总结和讨论

以上比较系统和全面地介绍了基于最适 pH、立体专一性以及结构和催化机理的植酸酶分类相关最新研究进展,特别是对结构和催化机理各不相同的 4 类植酸酶的特征及其代表酶的集中论述,从本质上比较深入地阐明了植酸酶的结构和催化功能关系。通过比较我们会发现:基于最适 pH,真菌、酵母、绝大多数细菌和植物都产酸性植酸酶,少数细菌和植物产偏碱性植酸酶;基于立体专一性,绝大多数微生物和植物分别产 3-植酸酶和 6-植酸酶,但有少数例外,极为个别的微生物和植物种类产 5-植酸酶;基于结构和催化机理, HAPhy 在真菌、酵母、细菌和植物中分布最为普遍, BPP 碱性植酸酶主要存在于部分细菌特别是水生环境细菌, CPhy 仅存于瘤胃细菌,而 PAPHy 存在于少部分植物。就结构和催化机理方面,除了 BPP 对植酸高度特异外, HAP、CP 和 PAP 3 个类群尽管都具有各自的特征保守催化基元,但并非其中所有成员都有植酸酶活性。这是因为除了催化部位外底物结合部位等其余氨基酸顺序对植酸酶活性也具有举足轻重的作用,据此我们用 HAPhy、CPhy 和 PAPHy 分别代表具有植酸酶活性的 HAP、CP 和 PAP。HAPhy 和 BPP 两个植酸酶类群在自然界分布最为广泛,对其研究也最多,但后来发现的 CPhy 和 PAPHy 两个目前看来在自然界分布非常有限的植酸酶类群,对认识植酸酶的多样性具有重要意义。

Oh 等先前基于结构和催化机理介绍了 HAPhy 和 BPP 两个植酸酶类群的特点^[32],结合最近几年研究进展,我们整合 CPhy 和 PAPHy 两个后来发现的植酸酶类群,系统介绍了 HAPhy、BPP、CPhy 和 PAPHy 4 个植酸酶类群的各自特征和最新研究成果。这样根据结构表征和动力学研究诸如氨基酸序列特征和高级结构、底物特异性、pH 分布、植酸降解途径和终产物以及 Ca^{2+} 依赖性等相关信息,我们可以对植酸酶有一个立体化的认识和准确理解。必要时我们可以对 4 个已知植酸酶类群做更细致的亚类分类和进一步研究,相信随着植酸酶研究的继续深入和拓展,今后可能还会有新的植酸酶类群被发现。

目前国内植酸酶研究非常多,但尚无植酸酶系统分类方面的探讨,基于结构和催化机理的植酸酶多样性认识模糊,相关研究鲜有报道。作者认为每一个植酸酶研究者都有责任基于科学客观的分类标准,特别是结构和催化机理方面,对所研究的植酸酶进行全面表征和准确归类,切实做到有的放矢,为真正有开发价值的植酸酶的生产 and 应用提供可靠的理论依据。植酸酶大有可用,在资源环境保护和造福人类方面愈来愈发挥重要作用,日益受到人们的普遍认同和深度研发。植酸酶分类,特别是基于结构和催化机理方面必将有助于指导人们准确理解和有效地应用植酸酶,也必将有力地推动国内植酸酶的研究进程和水平。

参考文献

- [1] Reddy NR, Sathe SK, Salunkhe DK. Phytates in legumes and cereals. *Adv Food Res*, 1982(28): 1-92.
- [2] Erdman JW. Oilseed phytates: nutritional implications. *J Am Oil Chem Soc*, 1979(56): 736-741.
- [3] Sharpley AN, Charpa SC, Wedepohl R, *et al.* Managing agricultural phosphorus for protection of surface waters: issues and options. *J Environ Qual*, 1994(23): 437-451.
- [4] Bilyeu KD, Zeng PY, Coello P, *et al.* Quantitative conversion of phytate to inorganic phosphorus in soybean seeds expressing a bacterial phytase. *Plant Physiology*, 2008(146): 468-477.
- [5] Zhang WF, Ma WQ, Ji YX, *et al.* Efficiency, economics, and environmental implications of phosphorus resource use and the fertilizer industry in China. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2008, **80**(2): 131-144.
- [6] Frontela C, Scarino ML, Ferruzza S, *et al.* Effect of dephytinization on bioavailability of iron, calcium and zinc from infant cereals assessed in the Caco-2 cell model. *World J Gastroenterol*, 2009, **15**(16): 1977-1984.
- [7] Liu N, Ru YJ, Li FD, *et al.* Effect of diet containing phytate and phytase on the activity and messenger ribonucleic acid expression of carbohydrase and transporter in chickens. *J Anim Sci*, 2008, **86**(12): 3432-3439.
- [8] Mullaney EJ, Daly CB, Ullah AH. Advances in phytase research. *Adv Appl Microbiol*, 2000(47): 157-199.
- [9] Suzuki U, Yoshimura K, Takaishi M. Ueber ein enzym "Phytase" das "Anhydro-oxy-methylen diphosphorsäure" spaltet. *Tokyo Imper Univ Coll Agric Bull*, 1907(7): 503-512.
- [10] Dvorakova J. Phytase: sources, preparation and exploitation. *Folia Microbiol*, 1998(43): 323-338.
- [11] Wodzinski RJ, Ullah AH. Phytase. *Adv Appl Microbiol*, 1996(42): 263-302.
- [12] Greiner R, Konietzny U, Jany KD. Purification and charac-

- terization of two phytases from *Escherichia coli*. *Arch Biochem Biophys*, 1993(303): 107–113.
- [13] Gulati HK, Chadha BS, Saini HS. Production and characterization of thermostable alkaline phytase from *Bacillus laevolacticus* isolated from rhizosphere soil. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2007, **34**(1): 91–98.
- [14] Scott JJ, Loewus FA. A calcium-activated phytase from pollen of *Lilium longiflorum*. *Plant Physiol*, 1986, **82**(1): 333–335.
- [15] Hartingsveldt W, Zeijl CM, Hartevelde GM, et al. Cloning, characterization and overexpression of the phytase encoding gene (*phyA*) of *Aspergillus niger*. *Gene*, 1993(127): 87–94.
- [16] Huang H, Shi P, Wang Y, et al. Diversity of beta-propeller phytase genes in the intestinal contents of grass carp provides insight into the release of major phosphorus from phytate in nature. *Appl Environ Microbiol*, 2009, **75**(6): 1508–1516.
- [17] Haefner S, Knietzsch A, Scholten E, et al. Biotechnological production and applications of phytases. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005(68): 588–597.
- [18] Bohn L, Meyer AS, Rasmussen SK. Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2008, **9**(3): 165–191.
- [19] Sajidan A, Farouk A, Greiner R, et al. Molecular and physiological characterisation of a 3-phytase from soil bacterium *Klebsiella* sp. ASR1. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, **65**(1): 110–118.
- [20] Gargova S, Sariyska M, Angelov A, et al. *Aspergillus niger* pH 2.1 optimum acid phosphatase with high affinity for phytate. *Folia Microbiol (Praha)*, 2006, **51**(6): 541–545.
- [21] Ragon M, Aumelas A, Chemardin P, et al. Complete hydrolysis of *myo*-inositol hexakisphosphate by a novel phytase from *Debaryomyces castellii* CBS 2923. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, **78**(1): 47–53.
- [22] Greiner R, Alminger ML, Carlsson NG. Stereospecificity of *myo*-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of baker's yeast. *J Agric Food Chem*, 2001, **49**(5): 2228–2233.
- [23] Greiner R, Carlsson N, Alminger ML. Stereospecificity of *myo*-inositol hexakisphosphate dephosphorylation by a phytate-degrading enzyme of *Escherichia coli*. *J Biotechnol*, 2001, **84**(1): 53–62.
- [24] Greiner R, Farouk AE, Carlsson NG, et al. *Myo*-inositol phosphate isomers generated by the action of a phytase from a Malaysian waste-water bacterium. *Protein J*, 2007, **26**(8): 577–584.
- [25] Lassen SF, Breinholt J, Ostergaard PR, et al. Expression, gene cloning, and characterization of five novel phytases from four basidiomycete fungi: *Peniophora lycii*, *Agrocybe pediades*, a *Ceriporia* sp., and *Trametes pubescens*. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(10): 4701–4707.
- [26] Greiner R, Larsson AM, Carlsson NG, et al. Pathway of dephosphorylation of *myo*-inositol hexakisphosphate by phytases of legume seeds. *J Agric Food Chem*, 2002(50): 6865–6870.
- [27] Puhl AA, Greiner R, Selinger LB. A protein tyrosine phosphatase-like inositol polyphosphatase from *Selenomonas ruminantium* subsp. *Lactilytica* has specificity for the 5-phosphate of *myo*-inositol hexakisphosphate. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, **40**(10): 2053–2064.
- [28] Barrientos L, Scott JJ, Murthy PP. Specificity of hydrolysis of phytic acid by alkaline phytase from lily pollen. *Plant Physiol*, 1994, **106**(4): 1489–1495.
- [29] Lei XG, Porres JM. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnology Letters*, 2003(25): 1787–1794.
- [30] Ullah AH, Cummins BJ, Dischinger HC. Cyclohexanedione modification of arginine at the active site of *Aspergillus ficuum* phytase. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991(178): 45–53.
- [31] Mitchell DB, Vogel K, Weimann BJ, et al. The phytase subfamily of histidine acid phosphatase: isolation of genes for two novel phytases from fungi *Aspergillus terreus* and *Myceliophthora thermophila*. *Microbiology*, 1997(143): 245–252.
- [32] Oh BC, Choi WC, Park S, et al. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, **63**(4): 362–372.
- [33] Luo H, Huang H, Yang P, et al. A novel phytase AppA from *Citrobacter amalonaticus* CGMCC 1696: gene cloning and overexpression in *Pichia pastoris*. *Curr Microbiol*, 2007, **55**(3): 185–192.
- [34] Li X, Liu Z, Chi Z, et al. Molecular cloning, characterization, and expression of the phytase gene from marine yeast *Kodamaea ohmeri* BG3. *Mycol Res*, 2009, **113**(Pt1): 24–32.
- [35] Fugthong A, Boonyapakron K, Sornlek W, et al. Biochemical characterization and *in vitro* digestibility assay of *Eupenicillium parvum* (BCC17694) phytase expressed in *Pichia pastoris*. *Protein Expr Purif*, 2009, **113**(Pt1): 24–32.
- [36] Kostrewa D, Grüniger-Leitch F, D'Arcy A, et al. Crystal structure of phytase from *Aspergillus ficuum* at 2.5 Å resolution. *Nature Struct Biol*, 1997(4): 185–190.
- [37] Wyss M, Brugger R, Kronenberger A, et al. Biochemical characterization of fungal phytases (*myo*-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): Catalytic properties. *Appl Environ Microbiol*, 1999(65): 367–373.
- [38] Mullaney EJ, Daly CB, Kim T, et al. Site-directed mutagenesis of *Aspergillus niger* NRRL 3135 phytase at residue 300 to enhance catalysis at pH 4.0. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002(297): 1016–1020.
- [39] Ullah AH, Cummins BJ. Purification, N-terminal amino acid sequence and characterization of pH 2.5 optimum acid phosphatase (E.C.3.1.3.2) from *Aspergillus ficuum*. *Prep Biochem*, 1987(17): 397–422.
- [40] Kostrewa D, Wyss M, D'Arcy A, et al. Crystal structure of *Aspergillus niger* pH 2.5 acid phosphatase at 2.4 Å resolution.

- J Mol Biol*, 1999(288): 965–974.
- [41] Kim T, Mullaney EJ, Porres JM, *et al.* Shifting the pH profile of *Aspergillus niger* PhyA phytase to match the stomach pH enhances its effectiveness as an animal feed additive. *Appl Environ Microbiol*, 2006, **72**(6): 4397–4403.
- [42] Weaver JD, Mullaney EJ, Lei XG. Altering the substrate specificity site of *Aspergillus niger* PhyB shifts the pH optimum to pH 3.2. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, **76**(1): 117–122.
- [43] Høiberg-Nielsen R, Fuglsang CC, Arleth L, *et al.* Interrelationships of glycosylation and aggregation kinetics for *Peniophora lycii* phytase. *Biochemistry*, 2006, **45**(15): 5057–5066.
- [44] Høiberg-Nielsen R, Westh P, Arleth L. The effect of glycosylation on interparticle interactions and dimensions of native and denatured phytase. *Biophys J*, 2009, **96**(1): 153–161.
- [45] Ullah AH, Dischinger JH. *Aspergillus ficuum* phytase: complete primary structure elucidation by chemical sequencing. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993(92): 747–753.
- [46] Quan CS, Tian WJ, Fan SD, *et al.* Purification and properties of a low-molecular-weight phytase from *Cladosporium* sp. FP1. *J Biosci Bioeng*, 2004(97): 260–266.
- [47] Mullaney EJ, Ullah AH. Conservation of cysteine residues in fungal histidine acid phytases. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **328**(2): 404–408.
- [48] Rodriguez E, Wood ZA, Karplus PA, *et al.* Site-directed mutagenesis improves catalytic efficiency and thermostability of *Escherichia coli* pH 2.5 acid phosphatase/phytase expressed in *Pichia pastoris*. *Arch Biochem Biophys*, 2000, **382**(1): 105–112.
- [49] Berkmen M, Boyd D, Beckwith J. The nonconsecutive disulfide bond of *Escherichia coli* phytase (AppA) renders it dependent on the protein-disulfide isomerase, DsbC. *J Biol Chem*, 2005, **280**(12): 11387–11394.
- [50] Mullaney EJ, Ullah AHJ. The term phytase comprises several different classes of enzymes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003(312): 179–184.
- [51] Ha NC, Oh BC, Shin S, *et al.* Crystal structures of a novel, thermostable phytase in partially and fully calcium-loaded states. *Nature Struct Biol*, 2000(7): 147–153.
- [52] Fu S, Sun J, Qian L. Effect of Ca²⁺ on beta-propeller phytases. *Protein Pept Lett*, 2008, **15**(1): 39–42.
- [53] Oh BC, Kim MH, Yun BS, *et al.* Ca(2+)-inositol phosphate chelation mediates the substrate specificity of beta-propeller phytase. *Biochemistry*, 2006, **45**(31): 9531–9539.
- [54] Shin S, Ha NC, Oh BC, *et al.* Enzyme mechanism and catalytic property of beta propeller phytase. *Structure*, 2001, **9**(9): 851–858.
- [55] Greiner R, Lim BL, Cheng C, *et al.* Pathway of phytate dephosphorylation by beta-propeller phytases of different origins. *Can J Microbiol*, 2007, **53**(4): 488–495.
- [56] Chatterjee S, Sankaranarayanan R, Sonti RV. PhyA, a secreted protein of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, is required for optimum virulence and growth on phytic acid as a sole phosphate source. *Mol Plant Microbe Interact*, 2003, **16**(11): 973–982.
- [57] Cheng C, Wong KB, Lim BL. The effect of disulfide bond on the conformational stability and catalytic activity of beta-propeller phytase. *Protein Pept Lett*, 2007, **14**(2): 175–183.
- [58] Cheng C, Lim BL. Beta-propeller phytases in the aquatic environment. *Arch Microbiol*, 2006, **185**(1): 1–13.
- [59] Lim BL, Yeung P, Cheng C, *et al.* Distribution and diversity of phytate-mineralizing bacteria. *ISME J*, 2007, **1**(4): 321–330.
- [60] Huang H, Shao N, Wang Y, *et al.* A novel beta-propeller phytase from *Pedobacter nyackensis* MJ11 CGMCC 2503 with potential as an aquatic feed additive. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2009, **83**(2): 249–259.
- [61] Scott JJ. Alkaline phytase activity in nonionic detergent extracts of legume seeds. *Plant Physiol*, 1991, **95**(4): 1298–1301.
- [62] Jog SP, Garchow BG, Mehta BD, *et al.* Alkaline phytase from lily pollen: investigation of biochemical properties. *Arch Biochem Biophys*, 2005, **440**(2): 133–140.
- [63] Garchow BG, Jog SP, Mehta BD, *et al.* Alkaline phytase from *Lilium longiflorum*: purification and structural characterization. *Protein Expr Purif*, 2006, **46**(2): 221–232.
- [64] Mehta BD, Jog SP, Johnson SC, *et al.* Lily pollen alkaline phytase is a histidine phosphatase similar to mammalian multiple inositol polyphosphate phosphatase (MINPP). *Phytochemistry*, 2006, **67**(17): 1874–1886.
- [65] Nakashima BA, McAllister TA, Sharma R, *et al.* Diversity of phytases in the rumen. *Microb Ecol*, 2007, **53**(1): 82–88.
- [66] Yanke LJ, Bae HD, Selinger LB, *et al.* Phytase activity of anaerobic ruminal bacteria. *Microbiology*, 1998, **144**(Pt6): 1565–1573.
- [67] Chu HM, Guo RT, Lin TW, *et al.* Structures of *Selenomonas ruminantium* phytase in complex with persulfated phytate: DSP phytase fold and mechanism for sequential substrate hydrolysis. *Structure*, 2004, **12**(11): 2015–2024.
- [68] Gruninger RJ, Selinger LB, Mosimann SC. Effect of ionic strength and oxidation on the P-loop conformation of the protein tyrosine phosphatase-like phytase, PhyAsr. *FEBS J*, 2008, **275**(15): 3783–3792.
- [69] Yanke LJ, Selinger LB, Cheng KJ. Phytase activity of *Selenomonas ruminantium*: a preliminary characterization. *Lett Appl Microbiol*, 1999(29): 20–25.
- [70] Hong CY, Cheng KJ, Tseng TH, *et al.* Production of two highly active bacterial phytases with broad pH optima in germinated transgenic rice seeds. *Transgenic Res*, 2004, **13**(1): 29–39.
- [71] Schenk G, Guddat LW, Ge Y, *et al.* Identification of mammalian-like purple acid phosphatases in a wide range of

- plants. *Gene*, 2000(250): 117–125.
- [72] Olczak M, Morawiecha B, Watorek W. Plant purple acid phosphatases—genes, structures and biological function. *Acta Biochimica Polonica*, 2003(50): 1245–1256.
- [73] Hegeman CE, Grabau EA. A novel phytase with sequence similarity to purple acid phosphatases is expressed in cotyledons of germinating soybean seedlings. *Plant Physiol*, 2001, **126**(4): 1598–1608.
- [74] Lung SC, Leung A, Kuang R, *et al.* Phytase activity in tobacco (*Nicotiana tabacum*) root exudates is exhibited by a purple acid phosphatase. *Phytochemistry*, 2008, **69**(2): 365–373.
- [75] Kuang R, Chan KH, Yeung E, *et al.* Molecular and biochemical characterization of AtPAP15, a purple acid phosphatase with phytase activity, in arabidopsis. *Plant Physiol*, 2009, **151**(1): 199–209.
- [76] Zhang W, Gruszewski HA, Chevone BI, *et al.* An *Arabidopsis* purple acid phosphatase with phytase activity increases foliar ascorbate. *Plant Physiol*, 2008, **146**(2): 431–440.
- [77] Mullaney EJ, Daly CB, Ehrlich KC, *et al.* The *Aspergillus niger (ficcum) aphA* gene encodes a pH 6.0-optimum acid phosphatase. *Gene*, 1995(162): 117–121.
- [78] Mullaney EJ, Ullah AH. Conservation of the active site motif in *Aspergillus niger (ficcum)* pH 6.0 optimum acid phosphatase and kidney bean purple acid phosphatase. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998(243): 471–473.

征订启事

《基因组学与应用生物学》征订启事

《基因组学与应用生物学》是由广西大学主管和主办，公开发行的双月刊科学期刊。广西大学聘请中国科学院院士及美国国家科学院外籍院士张启发博士任主编，北京大学教授朱玉贤博士和海南省热带农业资源研究所所长方宣钧博士任执行主编，国内众多的著名学者出任编委。

《基因组学与应用生物学》将面向基因组学、分子遗传学、生化与分子生物学、生物信息学等基础学科领域，着重刊登农林科学、医药科学、动物科学、环境与生态科学以及生物学实验技术与方法等应用生物学领域的最新研究进展和成果。将开设综述与专论、研究论文、新技术新基因新种质等栏目。本刊按国际标准编排，题目摘要、图表、引用文献等均实行中英文对照，实现网上领先发表模式。

《基因组学与应用生物学》，前身是原《广西农业大学学报》，创刊于1982年。广西农业大学合并入广西大学以后更名为《广西农业生物科学》。《广西农业生物科学》已入编《中文核心期刊要目总览》2008年版（即第五版）之综合性农业科学类的核心期刊，是中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊，也是中国科技核心期刊即中国科技论文统计源期刊。2001年入选国家新闻出版总署“中国期刊方阵”，先后被国际知名检索系统——英国国际农业与生物科学研究中心(CABI)、美国《化学文摘》(CA)、美国《剑桥科学文摘：自然科学》(CSA: NS)、英国《动物学记录》(ZR)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等收录。

承载着《广西农业生物科学》的历史与荣誉，《基因组学与应用生物学》将在新的高度开拓奋进，为现代生命科学和应用生物学的研究与发展提供学术交流的平台，使之成为中国科学家走向世界的桥梁。

《基因组学与应用生物学》《Genomics and Applied Biology》，ISSN1674-568X，CN45-1369/Q，双月刊，双月28日出版，国内定价：人民币¥40.00/期，人民币¥240.00/年；国际定价：美元\$40.00/期，美元\$240.00/年。