



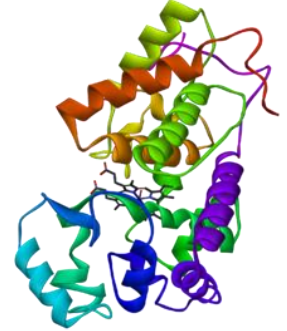
המרכז לנוער שוחר מדע

מיצוי אנזים הפרוקסידאז מעלי צמחים

רקע תיאורטי

חלבוני פרוקסידאז (peroxidase) הם קבוצה של אנזימים הנקראים כך בשל הסובסטרט העיקרי שלהם: H_2O_2 - מי חמצן (פרוקסיד המימן). פרוקסידאז הופך מי חמצן למים, תוך כדי שימוש בחומר מחזור כלשהו. פרוקסידאזות נמצאות בבעלי חיים, צמחים, פטריות וחיידקים. בצמחים, אחד התפקידים של פרוקסידאז הוא להוות הגנה כנגד פולשים חידיקיים ופיטריטיים. בנוסף, משייכים לפרוקסידאזות תפקידים שונים בהתפתחות הצמח.

באנזימים מקבוצת הפרוקסידאזות נעשה שימוש בשיטות ביוטכנולוגיות שונות לדוגמה בדיקת ביטוי חלבונים ע"י HRP (horse radish peroxidase) המחובר לנוגדן שניוני.



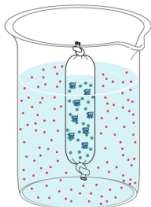
אנזימים אשר נבדלים ברצף החומצות האמיניות שלהם אבל עדיין הם בעלי תכונות מבניות ואנזימטיות דומות נקראים איזואנזימים (isoenzymes) או איזוזימים. גם לפרוקסידאז יש איזואנזימים שונים. בבדיקת אורגניזמים שונים ניתן למצוא בדרך כלל איזוזימים שונים של פרוקסידאז. את האיזוזימים השונים ניתן לזהות ולאפיין באלקטרופורזה. לעתים ניתן למצוא אף מספר איזוזימים שונים באותו אורגניזם עצמו.

מטרת המחקר:

מיצוי, הפרדת ואפיון אנזים הפרוקסידאז מדוגמה ביולוגית ע"י שימוש בשיטות ביוטכנולוגיות חדשניות.

שלבי העבודה:

1. הכנה ושבירת התאים הצמחיים בעזרת מכתש ועלי בבופר מתאים.
2. הפרדה בין הנוזל המכיל את החלבונים המסיסים לבין שארית התאים - בעזרת צנטריפוגה.
3. שיקוע חלבונים באמוניום סולפט.
4. שימוש בשקיות דיאליזה להפרדה בין החלבונים למולקולות קטנות.
5. כמות חלבונים בדוגמה ע"י ריאקציית בראדפורד.
6. בדיקת פעילות אנזימטית של פרוקסידאז בשיטות ספקטרופוטומטריות.
7. הכנה של ג'ל להפרדה חלבונים נטיבית.
8. זיהוי איזואנזימים מצמחים שונים בגיל פוליאקרילאמיד נטיבי ע"י פיתוח צבע בנוכחות הסובסטרט של האנזים - מי חמצן.





משרד החינוך
המנהל למדע וטכנולוגיה
נוער שוחר מדע



אורט בראודה
המכללה האקדמית להנדסה



המרכז לנוער שוחר מדע