

A3

doi: 10.14232/fgykf.2018.a3

Egyszerű gél-előhívási módszer mirozináz enzimaktivitás detektálásáhozPlaszko Tamás,¹ Szűcs Zsolt,¹ Cziáky Zoltán,² Kiss-Szikszai Attila,³Vasas Gábor,¹ M-Hamvas Márta,¹ Gonda Sándor¹¹ Debreceni Egyetem, Növénytan Tanszék, 4010 Debrecen, Egyetem tér 1² Nyíregyházi Egyetem, Agrár és Molekuláris Kutató és Szolgáltató Int., 4400 Nyíregyháza, Sóstói út 31/b³ Debreceni Egyetem, Szerves Kémiai Tanszék, Debrecen 4010, Egyetem tér 1

A mirozináz a Brassicaceae család számos tagjában előforduló enzim. Glükoszínolát vegyületeket hidrolizál, melyek azután különféle illékony, bioaktív vegyületekké rendeződnek át pl.: nitrilek, tiocianátok, izotiocianátok. Az izotiocianátok jól ismertek antimikrobiális és antikarcinogén tulajdonságaik miatt és ezen vegyületeknek köszönhetjük számos növény emberre gyakorolt jótékony hatását pl: *Armoracia rusticana* (torma).

Kutatásunk során azt a célt tűztük ki magunk elé, hogy egy olyan egyszerű és reverzibilis módszert fejlesszünk ki, melynek segítségével detektálhatjuk a mirozináz aktivitást PAGE és SDS-PAGE módszerekkel elválasztott fehérjekivonatoknál. Az előhívó reagens elkészítéséhez metilvörös festéket használtunk, amely intenzív vörös sávokat produkált glükoszínolátok enzimatis hidrolízise során felszabaduló HSO_4^- ionok jelenlétében. Ezután az aktivitást mutató gél-sávokat kivágtuk és származékképző oldatban inkubáltuk annak érdekében, hogy bebizonyítsuk hogy az általunk detektált reakció valóban mirozináz volt. LC-ESI-MS méréssel ezt sikerült is bizonyítani az inkubáló oldatokban mirozináz enzim által létrehozott allil-izotiocianát volt detektálható.

A módszert sikeresen alkalmaztuk elsősorban torma gyökerekből, illetve egyéb Brassicaceae növények különböző részeiből (pl.: mustár, kelbimbó, brokkoli) készített enzimkivonatokon. Ezenfelül tormából izolált endofiton gombák enzimkivonataiban is sikerült mirozináz-szerű enzimaktivitást kimutatni. A módszerünk gyorsnak, egyszerűnek és hatékonynak mutatkozott, amellyel detektálhatunk és részlegesen karakterizálhatunk glükoszínolát bontó enzimeket különféle nehezen kivitelezhető fehérjetisztítási eljárások nélkül.

Témavezető: Gonda Sándor