مروری بر پراکسیدازهای گیاهان

سارا خاوری نژاد

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۷/ اصلاح: ۱۳۹۶/۰۶/۱۷/ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۸/ انتشار: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸

گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکدهٔ علوم‌زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
مسئول مکاتبات: Khavari-Nejad@khu.ac.ir

چکیده. پراکسیدازهای گیاهی (EC:۱,۱۱,۱,۷) شامل پروتئین‌های شامل هم هستند که به‌طور گسترده در گیاهان، میکروارگانیسم‌ها و حیوانات فعالیت دارند. این آنزیم دو سوبسترایی که پراکسید هیدروژن را تبدیل به آب می کند در مسیر کاتالیز خود باعث اکسید شدن بسیاری از سوبستراهای آلی و غیرآلی می‌شود که همه آنها برای سنجش فعالیت آنزیم قابل استفاده هستند. اما سوبسترای اختصاصی آن همچنان پراکسید هیدروژن است. وجود کلسیم و حداقل چهار باند دی‌سولفید در ساختار پروتئین به اثبات رسیده که به شکل‌گیری و استحکام ساختار سه‌بعدی مولکول کمک می‌کنند. پراکسیدازهای گیاهان نقش‌های متعددی از جمله دخالت در بیوسنتز لیگنین، متابولسیم اکسین، رشد سلول، ایجاد اتصالات عرضی دیواره سلول و به خصوص پاسخ به تنش‌های محیطی دارند. از آنجا که در تمامی فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه، پراکسید هیدروژن تولید می‌شود و با توجه به عملکرد پراکسیدازها برای برداشتن این مولکول از سلول گیاهی، لذا پراکسیدازها، گزینه خوبی برای پی‌گیری مسیر مقابله سلول با عوامل تنش زا و روبه رویی با موقعیت‌هایی مثل استرس اکسیداتیو به شمار می‌روند. همچنین با توجه به پیشرفت های علوم بیولوژی و تولید نمونه‌های خالص از پراکسیدازها، از این مولکول برای مطالعات لیگاند-پروتئین در تحقیقات داروسازی نیز استفاده می‌شود. بنابراین در این مرور کوتاه بر پراکسیدازهای گیاهان علاوه بر معرفی آنها، تا حدی به چگونگی سنجش فعالیت آنزیم، بررسی تعداد ایزوزیم‌ها و پی‌گیری تغییرات ساختاری پراکسیداز نیز نگاه کوتاهی شده است.

واژه‌های کلیدی. ابرخانواده های پراکسیدازها، ایزوآنزیم‌های پراکسیداز، ساختار پراکسیداز گیاهان، سنجش فعالیت آنزیم، عملکرد پراکسیداز گیاهان

A review on plant peroxidases

Sarah Khavari-Nejad

Received 15.02.2017/ Revised 08.09.2017/ Accepted 19.09.2017/ Published 19.03.2019

Department of Cell and Molecular Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
Correspondent author: Khavari-Nejad@khu.ac.ir

Abstract. Plant peroxidases (EC: 1.11.1.7) are heme-containing proteins widely found in plants, microorganisms and animals. This two-substrate enzyme catalyzes the hydrogen peroxide into water by oxidation of many organic and inorganic substrates, all of which can be used to measure enzyme activity. Nevertheless, its specific substrate is hydrogen peroxide. The presence of Calcium and at least four disulfide bonds in the protein structure contributes to the formation and strength of the three-dimensional structure of the molecule. Plant peroxidase plays roles in the lignin biosynthesis, auxin metabolism, cell growth, cell wall cross-linking and in the response to environmental stresses. Therefore, peroxidase is considered to be a good option in the monitoring of the way in which cells deal with stress factors such as oxidative stress. Nowadays, according to the production of pure samples of this molecule, peroxidase is used in ligand-protein studies in pharmaceutical research. In this brief overview, we have had a brief look at the way in which enzyme activity is measured, the number of isoenzymes in a cell and the ensuing conformational changes of peroxidase.

Keywords. assay the enzyme activity, conformation of plant peroxidase, function of plant peroxidase, peroxidase isoenzymes, peroxidase super families

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]

مقدمه

تاریخچه و طبقه‌بندی

خانوادهٔ بزرگ پراکسیداز (EC:۱,۱۱,۱,۷) که در گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم‌ها وجود دارد، مجموعه آنزیم‌هایی است که انواع ترکیبات آلی و معدنی را با مصرف پراکسید هیدروژن اکسید می‌کنند (Consea *et al.*, 2002). این آنزیم اولین بار در اوایل قرن نوزدهم توسط لوییس آنتونی پلانش معرفی شد، با این حال نام‌گذاری آن به نام پراکسیداز در اواخر قرن نوزدهم میلادی انجام گرفت و دانشمندانی چون رابرت کودات، نیکولاویچ باخ و دیوید کولین از ابتدای قرن بیستم مطالعات گسترده‌ای را بر روی ویژگی‌های بیوشیمیایی پر اکسیداز با استفاده از پراکسیدازهای گیاهان آغاز کردند (Lewis & Yamamoto, 1990). در این مسیر اولین پراکسیدازی که به‌طور خالص به دست آمد هورس رادیش پراکسیداز بود که در سال ۱۹۸۲ خالص شد و بتدریج مقدمات مطالعات ساختاری بر پر اکسیدازها را فراهم کرد. در طول حدود ۲۵ سال مطالعه (۱۹۴۵-۱۹۲۰) حضور مولکول هم و کربوهیدرات در ساختمان هورس رادیش پراکسیداز گزارش شد و در زمان کوتاهی پس از آن آنالیز واکنش با استفاده از پراکسید هیدروژن انجام گرفت، سپس پراکسیدازها و از جمله پراکسیدازهای گیاهان در زمره آنزیم‌های مهم در مطالعات بیوشیمیایی، فیزیولژیکی و داروسازی قرار گرفتند (Hiraga *et al.*, 2001).

ابر خانوادهٔ پراکسیدازهای گیاهی که دومین ابرخانواده از سه گروه تعریف شده توسط ولیندر در سال ۱۹۹۲ است (این دانشمند پراکسیداز را به سه ابر خانواده: پراکسیدازهای جانوری، پراکسیدازهای گیاهی و کاتالازها تقسیم کرد) شامل سه کلاس کلی است:

کلاس I: پراکسیدازهای پروکاریوتی، که مهم‌ترین عضو آن آسکوربات پراکسیداز است. سیتوکروم C پراکسیداز مخمری و میتوکندریایی نیز در این گروه قرار می‌گیرد. شباهت ساختمان اول پروتئین در این گروه زیاد است و پل‌های دی سولفور، کلسیم و کربوهیدرات در ساختار آنها وجود ندارد (Dunford,1999).

کلاس II: پراکسیدازهای قارچی، از این گروه لیگنین پراکسیداز و منگنز پراکسیداز به خوبی شناسایی شده است. این آنزیم‌ها در ساختار خودشان دو یون کلسیم، چهار پل دی سولفید حفاظت شده و کربوهیدرات دارند (Aslic *et al.*, 1997; Baunsgard *et al.*, 1993).

کلاس III: پراکسیدازهای کلاسیک گیاهی، که اغلب ترشحی هستند و به لحاظ ساختمان اول پروتئین حداقل ۵۰ و حداکثر ۹۵درصد شباهت ساختاری میان آنها وجود دارد، این خانواده شامل چهار پل دی سولفیدی حفاظت شده، دو یون کلسیم و بین ۲۵-۱۰ در صد کربوهیدرات هستند. به علاوه همه پراکسیدازهای این گروه بزرگ در ناحیه دیستال دو اسید آمینه حفاظت‌شده هیستیدین و آرژنین و در ناحیه پروکسیمال یک هیستیدین حفاظت شده دارند (Gajhede *et al.*, 1997).

کلاس های I و III دارای یک نیای مشترک باکتریایی هستند که در کلاس I سکانس باکتریایی آن از همه لحاظ حفظ شده اما در کلاس III فقط به لحاظ ظاهری شباهت به این جد مشترک حفظ شده است (Schuller *et al.*, 1996).

ساختمان و پایداری

Qas سیتوکروم C پراکسیداز مخمر اولین ساختار سه بعدی از پراکسیدازها بود که حدود بیست و پنج سال پیش به کمک اشعه X به دست آمد (Poulos *et al.*, 1980). وجود مقدار زیاد کربوهیدرات در این مولکول انجام مطالعات ساختاری بر آن را دشوار می‌نمود اما به تازگی با استفاده از یک روش نوترکیب، هورس رادیش پراکسیداز C غیر گلیکوزیله‌ای به‌دست آمده است که پیشرفت‌های قابل‌توجهی در مطالعات ساختاری درباره پراکسیدازها فراهم نموده است. به این ترتیب می‌دانیم که پراکسیدازهای کلاسیک گیاهی در کلاس III یک زنجیرهٔ پلی-پپتید منفرد دارند که حداقل شامل ۳۰۰ اسید آمینه است و یک گروه هم به عنوان ریشه پروستتیک در آنها وجود دارد. دو اتم کلسیم ساختاری و چهار پل دی سولفید بین چهار جفت سیستئین و یک پل نمکی آسپارتات – آرژنین درساختار دیده می‌شود و بیشتر پراکسیدازهای گیاهی گروه‌های N- گلیکوزیله فراوانی دارند که حداکثر تا ۲۵ درصد ساختار را تشکیل می‌دهد (Smith *et al.*, 1990). وجود جایگاه‌های اتصال کلسیم و پل‌های دی سولفید پایداری آنزیم را تأمین می‌کنند و از دست دادن یا اتصال کلسیم به علت نقشی که در جای‌گیری هم دارد جایگاه فعال آنزیم را تحت تأثیر قرار می‌دهد و نهایتاً این که فعالیت پراکسیدازی به حضور کلسیم یا یون مشابهی به لحاظ شعاع یونی وابسته است. جدا شدن

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]

کلسیم به علت خارج کردن پروتئین از شکل طبیعی تاخوردگی-هایش باعث کم شدن پایداری حرارتی آنزیم می‌شود حال آنکه حضور کربوهیدرات در ساختار اثر چندانی بر پایداری ترمودینامیک نداشته، بیشتر تأمین‌کنندهٔ پایداری کینتیکی آنزیم است (XU & Van Hugstee, 1994; Haschke & Friedhollf, 1987; Tmas & Welinder, 1998).

در موجودات عالی معمولا بیش از یک ایزوفرم پراکسیداز وجود دارد که عموما به لحاظ کاتالیتیک و ساختمان تفاوت دارند. برای مثال در برنج ۲۵ و در تنباکو ۱۲ ایزوزیم شناخته شده است و البته که بیشتر تنوع مربوط به پراکسیدازهای کلاس III گیاهی است. با این وجود هنوز نقش بیولژیک مستقل و مشخصی برای هر یک از این ایزوفرم‌ها تعریف نشده است. برخی از این ایزو آنزیم‌ها در یک بافت خاص و برخی دیگر در مرحله خاصی از مسیر رشد گیاه بیشتر بیان می‌شوند، علاوه بر آن تنش های محیطی در بیشتر یا کم‌تر بیان شدن یک ایزو آنزیم خاص نقش دارند. وجود این همه ایزوفرم پراکسیداز و تنوع بیان، نشان‌دهندهٔ حضور آنها در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای فیزیولژیک در یک سیستم زنده است (Gasper *et al*., 1985; Manjuanatha *et a*l., 2003).

سازوکار عمل

پس‌از مطالعات فراوان درباره سازوکار عمل پراکسیدازها، نهایتاً دانشمندان یک سازوکار واحد برای همه پراکسیدازها پیشنهاد کردند (Smith & Veitch, 1998; Veitch & Smith, 2001). در اولین مرحله از این مسیر، پراکسید هیدروژن به عنوان ششمین لیگاند به آهن موجود در هم متصل می‌شود. در این مرحله پراکسید به اندازه دو الکترون اکسید شده، به این ترتیب اولین ترکیب حد واسط تشکیل می‌شود (Chance *et al*., 1979; Chuang & Van, 1992; Sivaraja *et al*., 1989). در این ترکیب، ابتدا یک الکترون از فریک موجود در هم جدا شده، سپس با دریافت یک اتم اکسیژن که از پراکسید جداشده، یک مرکز اکسوفریل تشکیل می-شود. الکترون دوم گاهی از یک اسید آمینه (در سیتوکروم پراکسیداز) یا از پورفیرین (در هورس رادیش پراکسیداز) تأمین می-شود (Veitch, 2004). اولین ترکیب حد واسط طی دو مرحله به صورت تک الکترونی احیا می‌شود به این صورت که سوبسترای احیا کننده با دادن الکترون به اسید آمینه یا پورفیرین به شکل رادیکالی تبدیل می‌شود (در این مرحله دومین ترکیب حد واسط تشکیل می-شود) و در پایان چرخه کاتالیتیک با دومین مرحله احیاء تک الکترون کامل می‌شود. به این ترتیب که ابتدا یک مولکول با انتقال یک الکترون به ترکیب حد واسط دوم تبدیل به رادیکال شده، نهایتاً ترکیب حدواسط دوم به حالت استراحت باز می‌شود که شکل پیش از شروع واکنش است (Hayashi & Yamazaki, 1979).

$$E(Fe^{III},P)+H_2O_2 \rightarrow E(Fe^{IV}_{compoundI}=o,p^{0+})+H_2O$$

تشکیل حدواسط اول

$$E(Fe^{IV}=o,p^{o+})+RH \rightarrow E(Fe^{IV}_{compoundI}=o,p)+R^0$$

تشکیل حد واسط دوم

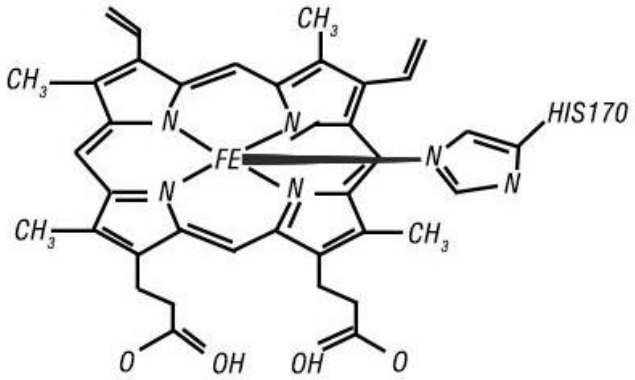
$$E(Fe^{IV}=o,p)+RH \rightarrow E(Fe^{III},p)+R^0+H_2O$$

بازگشت آنزیم به حالت استراحت

اسید آمینه‌های جایگاه فعال که در اتصال سوبسترا به این مکان کمک می‌کنند در میان پراکسیدازهای گیاهی ثابت و یا به شدت حفظ شده هستند.

ترکیبات بسیار متنوعی از جمله آمین‌های آروماتیک، ایندول‌ها، فنل‌ها و اسیدهای فنیک به وسیله پراکسیدازها اکسید می‌شوند و نهایتاً دایمرها یا الیگومرهایی تشکیل می‌شود که بعضی مواقع می تواند دوباره توسط پراکسیدازها اکسید شود (Veitch, 2004). معمولاً پراکسیدازها در جایگاه فعال خود دارای یک گروه پروستتیک هم هستند که عموماً به یک اسید آمینه هیستیدین به عنوان لیگاند پروکسیمال (جلویی) در جایگاه پنجم آهن کئوردینه شده است (شکل ۱). طول پیوند کئوردینه پنجم آهن به افزایش و کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء پراکسیدازهای مختلف وابسته است، مثلا هر قدر پیوند ضعیف‌تر باشد گروه ایمیدازول حالت قلیایی‌تری خواهد داشت که پایداری ترکیب حد واسط یک و افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیای آن را تأمین می‌کند (Banci *et al*., 1991; Hayashi & Yamazaki, 1979). این هیستیدین از طریق پروتون خود با کربوکسیلات زنجیرهٔ جانبی در آسپارتات ۲۴۷ پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند و این پیوند بر قدرت بازی حلقه ایمیدازول اثر مثبت دارد. در ناحیه دیستال رزیدوهای آرژنین ۳۸ و هیستیدین ۴۲ و آسپارژین ۷۰ مهم هستند. نیتروژن زنجیره جانبی هیستیدین ۴۲ نسبت به هیستیدین پروکسیمال در فاصله دورتری از آهن هم قرار دارد و به این ترتیب جایگاه

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]



شکل ۱- ریشه پروستتیک هم در پراکسیدازها

Fig. 1. Heme in plant peroxidase

ششم کئوردینانس برای مولکول‌هایی چون سیانید، آزاید و فلوراید که به شکل پروتونه متصل می‌شوند باز می‌ماند. به علاوه یک پیوند هیدروژنی بین اکسیژن کربونیل در زنجیره جانبی آسپارژین ۷۰ و پروتون هیستیدین دیستال نیز وجود دارد که برای پایداری مکان فعال لازم است (Valderrama *et al*., 2002; Welinder & Gajhede, 1993). این موارد برای بیشتر پراکسیدازهای گیاهی صادق است و تنها موارد نادری از تفاوت گزارش شده است که به یک مورد از آنها می‌توان اشاره کرد، به‌این‌صورت که جهت‌گیری رزیدوهای فنیل آلانین ۴۱ و هیستیدین ۴۲ در جایگاه دیستال پراکسیداز بادام زمینی و سویا کمی تغییر یافته است و این تغییر به علت جایگزینی یک رزیدوی آیزولوسین حجیم در پراکسیداز بادام زمینی و سویا به جای آلانین ۱۷۴ است (Candieas *et al*., 1996; Candieas *et al*., 1997).

واکنش و نقش پراکسیدازها

واکنش کاتالیز شده به وسیله پراکسیدازها به طور عمده دهیدروژناسیون اکسیداتیو است که به شکل زیر نمایش داده می‌شود اما علاوه بر انتقال اکسیژن، تخریب پراکسید هیدروژن نیز انجام می‌شود (Valderrama *et al*., 2002).

$$H_2O_2 + 2AH2 \rightarrow 2H_2O + 2AH^0$$

به لحاظ کینتیکی معمولاً K_m پراکسیدازها یک ثابت غیراشباع و بنابراین معمولا K_m آنها بزرگ است و کمپلکس آنزیم-سوبسترا کمپلکس سستی است. قبلاً گفته می‌شد بسته به اینکه سوبسترا چقدر آسان اکسید شود سرعت واکنش پراکسیدازی بیشتر می‌شود اما امروزه معلوم شده است که سرعت کاتالیز پراکسیدازی تنها به پتانسیل احیاء سوبسترای رادیکالی وابسته است (Candieas *et al*., 1997; Candieas *et al*., 1996; Job & dunford, 1976). پراکسیدازها به علت شرکت در دو چرخه پراکسیداتیو و هیدروکسیلیک می‌توانند در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولژیک شرکت کنند. به علاوه تنوع سوبستراهای پراکسیداز و تولید موادی چون لیگنین و سوبرین یا کاتابولیسم اکسین دلیل قاطعی بر عملکرد غیر قابل چشم‌پوشی این آنزیم در متابولیسم ثانویه سلول‌های گیاهی و قارچ‌ها است (Cogrove, 2001; Scialabba *et al*., 2002; Welinder, 1979). به علاوه پراکسیدازها در طویل شدن سلول‌ها و دفاع در مقابل پاتوژن‌ها نیز موثرند و به طور کلی مجموعه عملکرد پراکسیدازها منجر به تغییرات فیزیولژیک و تکوینی گیاه در طول مسیر رشد آن از جوانه‌زنی تا پیری می‌شود که از جمله شامل موارد زیر است:

۱- رشد سلول و از بین رفتن دیواره سلولی، پراکسیدازها با کنترل میزان پراکسید هیدروژن درون سلول توسط چرخه‌های پراکسیداتیو و هیدروکسیلیک مستقیما در فرآیند رشد سلول شرکت می‌کنند. رادیکال HO^o که توسط پراکسیدازها تولید می‌شود می‌تواند پلی ساکاریدهای دیواره سلولی مانند پکتین و گزیلوگلوکان را برش دهد (Cogrove, 2001).

۲- ایجاد اتصالات عرضی در دیواره سلول، پراکسیدازها قادرند میزان پراکسید هیدروژن را در دیواره سلول کنترل کنند که این

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]

ماده لازمه اتصالات عرضی گروه‌های فنلی است و با این کار در طویل شدن سلول نقش دارند (Welinder, 1979).

۳- جوانه زنی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) در حفاظت دانه‌ها در مقابل عوامل بیماریزا نقش دارند و بیان ژن هایپراکسیداز با جوانه زنی آغاز می‌شود تولید رادیکال HO° در این مرحله نقش حفاظتی دارد (Lewis & Yamamoto 1990; Morohashi & Matsushima, 2000; Wu, 2001).

۴- تشکیل لیگنین و سوبرین، جفت شدن اکسیداتیو زیرواحدهای لیگنین به عنوان بخشی از بیوسنتز لیگنین با تشکیل دیواره سلولی همراه و با کاهش رشد سلولی همزمان است. پراکسیدازها با مصرف پراکسید هیدروژن به عنوان اکسیدان باعث تولید رادیکال-های فنوکسی و فنو لیگنول می‌شوند که این رادیکال‌ها به صورت خود به خودی با هم جفت شده و پلیمرهای لیگنین را می‌سازند. ازسوی دیگر اتصال عرضی منومرهای فنلی باعث تولید سوبرین می‌شود (Alexander & Grierson, 2002).

۵- رشد و رسیدن میوه‌ها، رشد میوه با بزرگ شدن سلول همراه است و بزرگ شدن سلول کاملا وابسته به از دست رفتن دیواره سلولی است، بنابراین نقش پراکسیدازها در این فرآیند کاملا وابسته به تعادلی است که این آنزیم‌ها می‌توانند در شل و سفت شدن دیواره سلول گیاهی برقرار کنند (Alexander & Grierson, 2002).

۶- پاسخ به تنش‌ها، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) یک اتفاق طبیعی در سلول است که عموما حاصل مسیرهای عادی متابولیک از جمله تنفس و اکسید شدن مولکول‌ها است. اما میزان تولید این ترکیبات تحت تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد، این رادیکال‌های آزاد که شامل رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، به علاوه مشتقات اکسیژن با الکترون‌های نابرابر مثل اکسیژن تنها و پراکسید هیدروژن هستند مهم‌ترین عوامل منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو به حساب می‌آیند که آثار مخرب غیر قابل جبران بر ساختار و اجزای سلولی داشته، از اصلی‌ترین عوامل القاء مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول یا آپوپتوز به حساب می‌آیند (Khavari-Nejad, 2015; Khavari-Nejad *et al* 2007; Keyhani *et al*., 2009). لذا مجموعه‌ای از آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی و آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتازها، کاتالازها (Khavari-Nejad *et al*., 2007; Khavari-Nejad *et al*., 2016; Keyhani *et al*., 2005) و از جمله پراکسیدازها (Khavari-Nejad, 2015) در سلول شروع به برداشتن رادیکال-های آزاد اکسیژن و تلاش به نجات سلول از وارد شدن به مسیر آپوپتوز می‌کنند. پراکسیدازها به علاوه با تولید سدهای محکم فیزیکی مانند تولید لیگنین و سوبرین و گلیکو پروتئین‌های غنی از هیدروکسی پرولین از نفوذ این عوامل جلوگیری می‌کنند (Bowles, 1990).

کاربرد پراکسیدازها

به‌علت توانایی انتقال الکترون ازیک سوبسترای الکترون دهنده به یک مولکول پذیرنده، از پراکسیدازها در موارد متنوعی برای صنعت استفاده می‌شود (An *et al*., 2002; Bhunia, 2002; Shin & Kim, 1998). به علاوه در دهه‌های اخیر جهت تهیه بیوسنسورهای الکتروشیمیایی، الکترودهایی بر پایه پراکسیدازها تولید شده است که کاربردهای وسیعی برای تعیین پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسیدهای آلی در سیستم های آنالیتیک دارند (Jia *et al*., 2002). اما آنچه که اخیرا باعث توجه بیشتر به این آنزیم‌ها شده، تئوری القاء آپوپتوز از طریق آسیب مستقیم به آنزیم‌های حیاتی سلول است (Attar *et al*., 2009; Hadizadeh *et al*., 2009; Khavari-Nejad & Attar, 2015). همچنین، هورس رادیش پراکسیدازC نوترکیب، که فاقد بخش‌های حجیم کربوهیدرات است و ساختمان و نحوه عملکرد آن به خوبی شناخته شده، پراکسیدازها را به عنوان مدل مناسبی برای بررسی اتصال لیگاند- پروتئین در مسیر مطالعات دارویی مطرح کرده است که پیش از این عموماً به کمک آلبومین انجام می‌گرفت (Attar & Khavari-Nejad, 2016; Keyhani *et al*., 2003; Tayefi-Nasrabadi *et al*., 2006).

روش‌های متداول آزمایشگاهی برای مطالعه عملکرد و ساختار سنجش فعالیت و تعیین تعداد ایزوآنزیم‌ها

آنزیم پراکسیداز یک آنزیم دو سوبسترایی است که از پراکسید هیدروژن و یک سوبسترای احیاکننده جهت کاتالیز آنزیمی استفاده می‌کند. با توجه به این مطلب معمولا غلظت یکی از دو سوبسترا طبق قوانین میکائیلیس و منتن آنقدر بالا در نظر گرفته می‌شود که واکنش از آن مستقل باشد و عملاً فعالیت آنزیم، وابسته به غلظت سوبسترای دیگر بیش رود، در بیشتر مراجع به این شرایط که محقق برای آنزیم طراحی می‌کند، تک سوبسترایی کاذب می‌گویند (Tayefi-Nasrabadi *et al*., 2006). یکی از سوبستراها حتما

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]

پراکسید هیدروژن است که معمولا به صورت روزانه در آزمایشگاه آماده می‌شود و سوبسترای احیا کننده، معمولا یا اودیانیزیدین است (Khavari-Nejad & Attar, 2015; Keyhani *et al.*, 2003; Tayefi-Nasrabadi *et al.*, 2006) ویا گایاکل (Rahmani, 2012). در مورد اودیانیزیدین سنجش آنزیمی در طول موج ۴۶۰ نانومتر و برای گایاکل معمولا سنجش در ۴۷۰ نانومتر انجام می‌گیرد.

نظر به اینکه ایزوآنزیم‌های متعددی از پراکسیداز در مراحل مختلف رشد در اندام‌های متفاوت گیاه و یا شرایط متفاوت محیطی در سلول بیان می‌شود معمولاً برای تعیین ایزوآنزیم‌های موجود در سلول نمونه، گرادیانی از Hp به صورت Hp پروفایل در نظر گرفته می‌شود که معمولا این گرادیان به کمک بافر سیترات-فسفات-بورات ۰/۱ مولار که گستره وسیعی از Hp را بین ۳ تا ۱۲ تحمل می‌کند فراهم می‌شود. با سنجش فعالیت آنزیم در این گستره از Hp میزان فعالیت بهینه تعیین، و پیک‌های به‌دست‌آمده نشان‌دهندهٔ ایزوآنزیم‌های موجود از پراکسیداز در سلول نمونه هستند (شکل ۲) (Babakhani *et al.*, 2014; Shojaati *et al.*, 2015; Shams, 2014). پارامترهای کینتیکی پراکسیداز مانند K_m و V_{max} در همین مرحله قابل محاسبه است.

ژل الکتروفورز

تأیید تعداد ایزوآنزیم‌های پراکسیداز و یا افزایش و کاهش مقدار آنزیم درسلول نمونه به کمک ژل الکتروفورز امکان‌پذیر است. معمولاً برای این آزمایش از ژل پلی آکریلامید طبیعی بدون SDS (غیر دناتورانت) و رنگ‌آمیزی اختصاصی، ویژه فعالیت آنزیم پراکسیداز استفاده می‌شود. استفاده از پراکسید هیدروژن و اودیانیزیدین در این روش رنگ‌آمیزی باندهای پراکسیداز را به‌طور کاملاً اختصاصی روی ژل آشکار می‌سازد (شکل ۳) (Paknia, 2005). از سوی دیگر اگر پروژه با آنزیم خالص تعریف شده باشد، برای تعیین باندهای پراکسیداز می‌توان از ژل آگارز و رنگ‌آمیزی با کوماسی بلو نیز استفاده کرد.

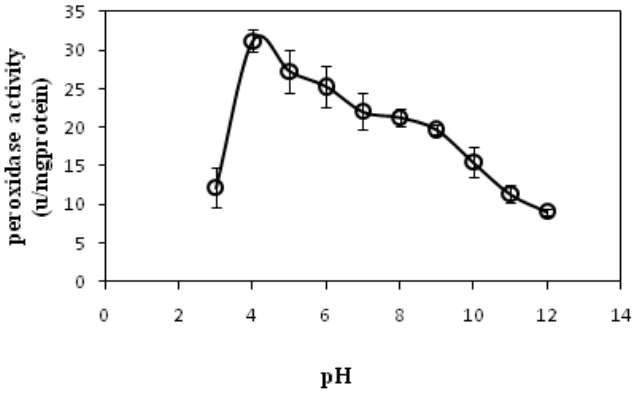
مطالعه تغییرات ساختاری پراکسیدازها با استفاده از اسپکتروفتومتری مرئی-فرابنفش

پراکسیداز یک هموپروتئین شامل ریشه پروستتیک هم است که منجر به حساسیت آن به تغییرات اطراف هم می‌شود. از این رو تغییرات محیط اطراف هم باعث تغییر در جذب الکترونی آنزیم می‌شود. طیف جذب الکترونی برای پراکسیداز در Hp ۴ و ۷ و در فاصله ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر گزارش شده است که بسیار شبیه به هم هستند (Khavari-Nejad & Attar, 2015; Lourenti *et al.*, 2000; Smulevich *et al.*, 1997). این طیف شامل یک باند سورت (مربوط به هم) در ۴۰۳ نانومتر، باند بتا در ۵۰۰ نانومتر و یک باند به نام TC_1 در ۶۴۲ نانومتر است. باند سورت به تغییرات ساختاری پاکت هم بسیار حساس است، به طوریکه هر تغییری در پاکت اطراف هم بر شدت باند سورت و جابه‌جایی مکان حداکثر جذب آن اثر دارد. در نتیجه این ناحیه شاخص قابل قبولی جهت بررسی ساختار اطراف هم است. باند TC_1 که در طول موج بالای ۶۰۰ نانومتر ظاهر می شود، اصطلاحاً به باند انتقال شارژ از حلقه پورفیرین به آهن هم معروف است. جابه‌جایی این باند به چپ و راست (طول موج های کمتر یا بیشتر از ۶۴۲ نانومتر) نشان‌دهندهٔ اثرات پیوند هیدورژنی (تشکیل یا شکسته شدن باند هیدروژنی) است، به طوری که اگر لیگاند متصل به آهن هم دهندهٔ پیوند هیدروژنی باشد با توجه به قدرت پیوند و انتقال بیشتر شارژ به اتم آهن باند، CT_1 در طول موج کمتر نمایان می‌شود و اگر لیگاند متصل به آهن هم گیرندهٔ پیوند هیدروژنی باشد این باند در طول موج بالاتری ظهور می‌نماید. به علاوه اگر لیگاند متصل شده به آهن هم گیرندهٔ پیوند هیدروژنی باشد هنگامی که این پیوند هیدروژنی شکسته می‌شود جابه‌جایی به طرف ناحیه با طول موج کمتر رخ می‌دهد. شکل طیف جذب الکترونی آنزیم هورس رادیش پراکسیداز برای نمونه در شکل ۴ آمده است. علاوه بر مطالب ذکر شده در بالا، تعیین پارامتر کینتیکی K_d یا ثابت تفکیک ظاهری برای کمپلکس لیگاند-پروتئین به کمک داده‌های این تکنیک برای پراکسیدازها قابل محاسبه است (Attar & Khavari-Nejad, 2016; Khavari-Nejad & Attar, 2015).

بررسی تغییرات ساختاری پراکسیدازها با استفاده از طیف سنجی فلورسانس

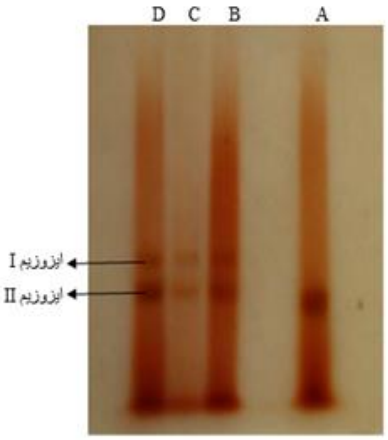
پراکسیدازها به علت داشتن رزیدوهای تایروزین و تریپتوفان در ساختار خود دارای فلورسانس ذاتی هستند. شدت این فلورسانس ذاتی درفاصله نشر ۳۰۰ تا ۶۰۰ نانومترو در دو طول موج

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]



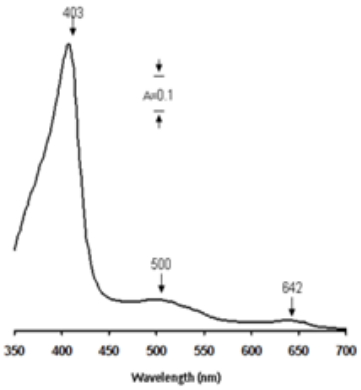
شکل ۲- منحنی pH بهینه فعالیت آنزیم پراکسیداز در عصاره‌ی آلوئه‌ورا و در حضور سوبسترای پراکسید هیدروژن واودیانیزیدین (Shojaati, 2015).

Fig. 2. The pH profile of peroxidase activity in *Aloe vera* L. extracts assayed with Hydrogen peroxide and O-dianisidine (Shojaati, 2015).



شکل ۳- تفکیک ایزوآنزیم‌های پراکسیداز چای ایرانی در ژل پلی آکریلامید ٪۱۰ و رنگ‌آمیزی اختصاصی به‌کمک پراکسیدهیدروژن و اودیانیزیدین. **A:** آنزیم مارکر؛ **B:** عصاره‌ی برگ‌های جوان؛ **C:** عصاره‌ی گل‌های چای؛ **D:** عصاره‌ی برگ‌های پیر (Babakhani, 2015).

Fig. 3. Peroxidase isoenzymes in *Camellia Sinensis* differentiated with polyacrilamide gel 10% using H_2O_2 and O-dianisidine. **A:** marker; **B:** young leaves extract; **C:** flowers extract; **D:** old leaves extracts (Babakhani, 2015).



شکل ٤- طیف جذب الکترونی آنزیم هورس رادیش پراکسیداز در حالت طبیعی و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد سه پیک مجزا شامل باند آلفا (۶۴۲ نانومتر) باند بتا (۵۰۰ نانومتر) و باند سورت یا گاما (۴۰۳ نانومتر) را نشان می‌دهد (Khavari-Nejad, 2012).

Fig. 4. Electronic absorption spectra for peroxidase at room temperature showed three separate picks Alpha band (642nm), beta band (500nm) and soret band (403nm) (Khavari-Nejad, 2012).

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]

برانگیختگی ۲۸۰ نانومتر (مربوط به تایروزین و تریپتوفان) و ۲۹۵ نانومتر (اختصاصی تریپتوفان) قابل اندازه گیری است (Khavari-Nejad & Attar, 2015; Tayefi-Nasrabadi *et al*., 2006). به این ترتیب طیف نشری پراکسیداز از تغییرات ساختاری مولکول در شرایط تنش‌های محیطی و یا هنگام اتصال لیگاند-پروتئین اطلاعات مورد نیاز را به دست می‌دهد. از سوی دیگر بسیاری از تفاوت‌های ساختاری بین ایزوآنزیم‌های پراکسیداز در یک بافت به این ترتیب قابل ردیابی است. تعیین نوع خاموشی فلورسانس با روش استرن-ولمر که نحوه خاموشی ماده فلوئوروفور در مجاورت مولکول خاموش کننده را تعیین می‌کند ازجمله پارامترهای مهم قابل اندازه‌گیری در پروژه‌های لیگاند-پروتئین برای پراکسیدازها است که با این روش قابل دست‌یابی می‌شود.

پراکسیدازها و دورنگ نمایی دورانی

برای پراکسیدازها نیز مانند بسیاری از پروتئین‌ها امکان مطالعه ساختار دوم با استفاده از دو رنگ نمایی دورانی در فاصله ۱۹۰ تا ۲۶۰ نانومتر که ناحیه جذب پیوند پپتیدی است وجود دارد. تخمین درصد هر جزء از ساختمان دوم پروتئین در پراکسیداز علاوه بر تعیین اختلافات و مشابهت‌های ایزوآنزیم‌ها، هنگام خالص‌سازی آنها نیز برای تخمین میزان خلوص نمونه و مطالعه جزئیات ساختاری پروتئین مورد استفاده است (Kelly & Price, 2000).

نتیجه‌گیری کلی

به طورکلی آنتی اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که با انتقال الکترون به رادیکال‌های آزاد، آنها را به شکل پایدار خود تبدیل می‌کنند و به این ترتیب تأمین‌کنندهٔ بقاء سلول به‌شمار می‌روند. از طرفی تولید رادیکال‌های آزاد به خصوص رادیکال‌های آزاد اکسیژن در مسیرهای متابولیک سلول موضوعی اجتناب‌ناپذیر و طبیعی است اما تأثیر تنش‌های محیطی بر رشد و نمو، ساختار پروتئین‌ها، تنفس و متابولیسم سلول سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و نهایتاً تنش اکسیداتیو می‌شود. آسیب به غشای سلول، تغییر ساختار و عملکرد پروتئین‌های حیاتی، تخریب DNA و نهایتاً آغاز مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلول اتفاقاتی هستند که در ادامه تنش اکسیداتیو در سلول رخ می‌دهند. اولین واکنش دفاعی سلول در برابر تنش اکسیداتیو، افزایش میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدان‌ها است که نهایتاً منجر به افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش محیطی می‌شوند. در این میان خانواده بزرگ پراکسیدازها، عموماً واکنش اکسیداسیون و احیا را بین پراکسیدهیدروژن به عنوان گیرندهٔ الکترون و انواع مختلفی از مواد فنلی، اسید آسکوربیک و آمین‌های آروماتیک کاتالیز می‌کنند. تبدیل پراکسیدهیدروژن به مولکول آب به وسیله پراکسیداز از تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن جلوگیری می‌کند و به‌عنوان اولین سد دفاعی سلول در برابر تنش اکسیداتیو به‌حساب می‌آید.

زمینه‌های مطالعه پراکسیدازها به عنوان اولین سد دفاعی سلول در برابر تنش اکسیداتیو تحمیل شده از سوی عوامل محیطی در مسیر رشد گیاهان بسیار متنوع و به علت وجود نمونه‌های خالص و شناخته شده‌ای مانند هورس رادیش پراکسیداز در حوزه‌ی تغییر ساختار و عملکرد پروتئین رایج است. مورد دوم که به طور عمده مدیون موفقیت اسمیت در تولید نوع نوترکیب این آنزیم در سال ۱۹۹۵ است، به خصوص باعث نزدیک‌تر شدن مرزهای علوم گیاهی و علوم سلولی و مولکولی به یکدیگر شده، هر دوی آنها را به قلمرو علوم دارویی پیوند می‌دهد.

سپاسگزاری

نگارنده از دکتر فرنوش عطار بابت کمک های نگارشی کمال تشکر را دارد.

REFERENCES

Alexander, L. and Grierson, D. 2002. Ethylene biosynthesis and action in tomato a model for climacteric fruit ripening. – J. Exp. Bot. 53: 2039-2055.

An, S.Y., Min, S.K., Cha, I.H., Choi, Y.L., Cho, Y.S., Jin, C.H. and Lee, Y.C. 2002. Decolorization of triphenyl methane and azo dyes by citrobacter sp. – Biotechnol. Lett. 248:1037-1040.

Aslic, N., Akileswaran, L. and Gold, M.H. 1997. Characterization of the gene encoding manganese peroxidase isozyme 3 from *Phanerochaete chrysosporium*. – Biochim. Biophy. Acta 1338: 1-7.

Attar, F., Khavri-nejad, S., Keyhani, J. and Keyhani, E. 2009. Structural and functional alteration of catalase induced by acriflavine, a compound causing apoptosis and necrosis. – Ann. N.Y. Acad. Sci. 1171: 292-299.

Attar, F. and Khavari-Nejad, S. 2016. *In vitro* study of drug-protein interaction using electronic absorption, fluorescence, and circular dichroism spectroscopy. – Arch Razi Inst. 71. 3: 183-194.

Babakhani, F. 2015. Study of catalase and peroxidase enzymes in young, old and tea plants. Department of Science and Research, Islamic Azad University, Master's Thesis.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]

[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]

Babakhani, F., Khavari-Nejad, S. and Eydi, A. 2014. Investigating activity of catalase in young, old and tea leaves. – The first international conference and the 4th National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture. Hamedan. Iran.

Banci, L., Bertini, I., Turano, P., Tien, M. and Kirk, T.K. 1991. Proton NMR investigation into the basic for the relatively high redox potential of lignin peroxidase. – Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 88: 6956-6960.

Baunsgard, L., Dalboqe, H., Houen, G., Rasmussen, E.M. and Welinder, K.G. 1993. Amino acid sequence of *Coprinus macrorhizus* peroxidase and DNA sequence encoding *Coprinus cinereus* peroxidase. A new family of fungal peroxidases. – Eur. J. Biochem. 213: 605-611.

Bhunia, A., Durani, S. and Wangikar, P. 2002. Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes. – Biotechnol. Bioeng. 72: 562-567.

Bowles, P.J. 1990. Defense – related proteins in higher plants. – Annu. Rev. Biochem 59: 873-907.

Candieas, L.P., Foles, L.K. and Wardma, P. 1997. Factors controlling the substrate specificity of peroxidases: kinetics and thermodynamics of the reaction of horseradish peroxidase compound I with phenols and indole-3- acetic acids. – Biochemistry 36: 7081-7085.

Candeias, L.P., Folks, L.K., Porssa, M., Parrich, J. and Wardman, P. 1996. Rates of reaction of indoleacetic acids with horseradish peroxidase compound I and their dependence on the redox potentials. – Biochemistry 35: 102-108.

Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. – Physiol Rev. 59: 527-605.

Chuang, W.J. and Van Wart, H.E. 1992. Resonance spectra of horseradish peroxidase and bovine liver catalase compound I Species. Evidence for predominant ZAZU Pi-cation radical ground state configuration. – J. Biol. Chem. 267: 13493-13301.

Cogrove, D.J. 2001. Wall structure and wall loosening. A look backwards and forwards. – Plant Physiol. 125: 131-134.

Conesa, A., Punt, P.J. and Van den Honder, A.M.J.J . 2002. Fungal peoxidases: Molecular aspects and applications. – J. Biotechnol. 93: 143-158.

Dunford, H.B. 1999. Heme peroxidase. – Plant Peroxidase Newsletter 13: 65-71.

Gajhede, M., Schuller, D.J., Henriksen, A., Smith, A.T. and Poulas, T.L. 1997. Crystal structure of horseradish peroxidase C at 2.15 A° resolution. – J. Struct. Biol. 4: 1032-1038.

Gaspar, T.H., Pene, C. and Grapping, H.A. 1985. A twostep control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. – Physiol. Plant. 64: 418-423.

Hadizadeh, M., Keyhani, E., Keyhani, J. and Khodadadi, S. 2009. Functional and structural alterations induced by copper in xanthine oxidase. – Acta Biochim. Biophys. Sin. 41: 603-617.

Haschke, R.H. and Friedholff, J.M. 1978. Calcium–related properties of horseradish peroxidase. – Biochem. Biophy. Res. Communi. 80: 1039-1043.

Hayashi, Y. and Yamazaki, I. 1979. The oxidation – reduction potentials of compound I/ compound II and compound II Ferric Couples of horseradish peroxidases Az and C. – J. Biol. Chem. 254: 9101-9106.

Hiraga, S., Sasaki, K., Ito, H., Ohashi, Y. and Matsui, H. 2001. A Large family of class III plant peroxidases. – Plant Cell Physical. 42: 462-468.

Jia, J., Wong, B., Wu, A., Cheng, G., Li, Z. and Don, S. 2002. A method to construct a third–generation horseradish peroxidase biosensor: Self- assembling gold nanoparticles to three- dimensional sol-gel network. – Anal. Chem. 74: 2217-2223.

Job, D. and Dunford, H.B. 1976. Substituent effect on the oxidation of phenols and aromatic amices by horseradish peroxidase compound I. – Eur. J. Biochem. 66: 607-614.

Kelly, Sh.M. and Price, N.C. 2000. The use of circular dichroism in the investigation of protein structure and function. – Curr Protein Pept. Sci. 1: 349-384.

Khavari-Nejad, S. ۲۰۱۲. Acriflavine- mediated apoptosis and necrosis in yeast Candida Utilis. Institute of Biochemistry and Biophysics Tehran University. PhD Thesis.

Khavari-Nejad, S. 2015. Doxorubicin-induced alterations in anti-ROS enzymes activity and cytochromes content in *Candida utilis* .– J. Pharm. Pharmacol. 3: 417-424.

Khavari-Nejad, S. and Attar, F. 2015. *In Vitro* Study of acriflavine interaction with horseradish peroxidase C. – Biomacromolecular Journal 1: 130-139.

Khavari-Nejad, S., Keyhani, E. and Keyhani, J. 2007. Inhibition by Doxorubicine of anti-ROS enzymes superoxide dismutase and catalase in *Salmonella typhymurium*. – The 2nd International Conference of BioMicroWorld, Seville, Spain.

Khavari-Nejad, S. Mashhadi akbar boojar, M. and Hejazi, A. 2016. Bufalin and digoxin induce apoptosis through ceramide and oxidative stress generation pathways in human melanoma cells. – Asian Academic Res. J. Multidisciplinary 3: 68-82.

Keyhani, E., Khavari-Njad, S., Keyhani, J. and Attar, F. 2009. Acriflavine-mediated apoptosis and necrosis in yeast *Candida utilis.* – Ann. N.Y. Acad. Sci. 1171: 284-291.

Keyhani, J., Keyhani, E., Eynollahi, N., Minai-Tehrani, D. and Zarchipour, S. 2003. Heterogeneous inhibition of horseradish peroxidase activity by cadmium. – Biochim. Biophys. Acta. 1621: 140-148.

Keyhani, J., Keyhani, E., Khavari-Nejad, S., Attar, F. and Azzari, F. 2005. Combined effect of doxorubicin and metal on the yeast *candida utilis*. –BioMicro World 1st International Conference, Spain, Badajoz.

Lewis, N.G. and Yamamoto, E. 1990. Lignin: Occurrence, biogenesis and biodegradation. – Annu. Rev. Plant Physiol. 41: 455-496.

Lourenti, E., Suriano, G. and Ghibaudi, R.P. 2000. Ionic Strength and pH effect on the Fe (III) imidazole bond in the heme pocket of horseradish peroxidase: an EPR

and UV-Visible combined approach. – J. Inorg. Biochem. 81: 259-266.

Manjuanatha, B.R., Virupakshi, S. and Naik, G.R. 2003. Peroxidase isozyme polymorphism in popular sugarcane cultivars. – Curr. Science 85: 1347-1349.

Morohashi, Y. and Matsushima, H. 2000. Development of beta 1, 3- glucanase activity in germinated tomato seeds. – J. Exp. Bot. 51: 1381-1387.

Paknia, E. 2005. Investigation of the properties of peroxidase enzymes in Sardasht leaves. – Biochem. & Biophysical Research Center, University of Tehran, Master's thesis.

Poulos, T.L., Freer, S.T., Alden, R.A., Edwards, S.L., Sogland, V., Takio, K., Eriksson, B., Xuong N.H., Yonetani, T. and Kraut, J. 1980. The crystal structure of cytochrome C peroxidase. – J. Biol. Chem. 255: 575-580.

Rahmani, A., Seyghali, N. and Ebrahimzadeh, H. 2012**.** Kinetic study of peroxidase activity in different concentrations of guaiacol in saffron crops. – Journal of Cellular-Molecular Biotechnology. Volume III, No. 11, 77-81.

Schuller, D.J., Ban, N., Huyste, R.B, Mcpherson, A. and Poulos, T.L. 1996. The crystal structure of peanut peroxidase. – Structure 4: 311-321.

Scialabba, A., Bellani, L.M. and Dell' Aquila, A. 2002. Effects of ageing on peroxidase activity and localization in radish seeds. – Eur. J. Histochem. 46: 351-358.

Shams, S., Khavari-Nejad, S. and Eydi, A. 2014. A review and comparison of some of the biochemical properties of catalase enzymes in rosemary plants in three live modes, after separation from stems and dry plants. – Second Scientific and Research Conference on Biology and Horticulture. Tehran, Iran.

Shojaati Samarin, L., Khavari-Nejad, S. and Eydi, A. 2015. Investigation of catalase activity in *Aloe vera* plant under salinity stress. – Second International Conference on Science and Technology. Istanbul.

Shojaati Samarin, L. 2015. Investigating the activity of catalase and peroxidase enzymes in *Aloe vera* plant under salt stress. – Department of Science and Research, Islamic Azad University, Master's Thesis.

Shin, K.S. and Kim, C.J. 1998. Decolorization of artificial dyes by peroxides from the white – rot fungus. *Pleurouts ostreatus*. – Biotech. Lett. 20: 569-572.

Sivaraja, M., Gidin, D.B., Smith, M. and Hoffman, B.M 1989. Identification by ENDOR of Trp 191 as the free –radical site cytochrome C peroxidase compound ES. – Science 245: 738-740.

Smith, A.T., Sanatama, N., Dacey, S., Edwards, M., Bray, R.C., Thorneley, and Burke, J.F. 1990. Expression of a synthetic gene for horseradish peroxidase C in *Escherichia coli* and folding and activation of the recombinant enzyme with ca^{+2} and heme. – J. Biol. Chem. 265: 13335-143343.

Smith, A.T. and Veitch, N.C. 1998. Substrate binding and catalysis in heme peroxidases. – Curr. Opin. Chem. Biol. 2: 269-278.

Smulevich, M., Paoli, G.D., Santics, A.R., Mantini, F. and M. Coletta. 1997. Spectroscopic evidence for a conformational transition in horseradish peroxidase at very low pH. – Biochemistry 36: 640-649.

Tayefi-Nasrabadi, H., Keyhani, E. and Keyhani, J. 2006. Conformational changes and activity alterations induced by nickel in horseradish peroxidase. – Biochimie. 88: 1183-1197.

Tmas, J.W. and Welinder, K.G. 1998. Glycosylation and thermodynamic versus kinetics stability of horseradish peroxidase. – FEBS Letters 421: 234-236.

Valderrama, B., Ayala, M. and Vasques–Duhalt, R. 2002. Suicide inactivation of peroxidase and the challenge of engineering more robust enzymes. – Chem. Biol. 9: 555-565.

Veitch, N.C. 2004. Structural determination of plant peoxidase function. – Phytochem. Rev. 3: 3-18.

Veitch, N.C. and Smith, A.T. 2001. Horseradish peroxidase. – Adv. Inorg. Chem. 51: 107-162.

Welinder, K.G. and Gajhede, M. 1993. Structure and evolution of peroxides plant peroxidases: Biochemistry and Physiology. – University of Geneva, Geneva. pp. 35-42.

Welinder, K.G. 1979. Amino acid sequence studies of horseradish peroxdiase. Amino and carboxyl termini, cyanogen bromide and tryptic fragments, the complete sequence and some structural characteristics of horseradish peroxidase C. – European J. Biochem. 96: 483-502.

Wu, C.T. 2001. Class I beta –1, 3–glucanase and chitinase are expressed in thermicropylar endosperm of tomato seeds prior to radical emergence. – Plant Physiol. 126: 1299-1313.

XU, Y., and Van Hugstee, R.B. 1994. Association of calcium and calmodulin to peroxidase secretion. – J. Plant Physiol. 141: 141-146.

*****

How to cite this article:

Khavari-Nejad, S. 2019. A review on plant peroxidases. – Nova Biol. Reperta 5: 428-437

خاوری‌نژاد، س. ۱۳۹۷. مروری بر پراکسیدازهای گیاهان. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۵: ۴۳۷-۴۲۸.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.4.5.9]

[DOI: 10.29252/nbr.5.4.428]