مقاله مروری آنتی‌اکسیدان

# مروری بر ویژگی‌های ساختاری، عملکرد متابولیسمی و سنجش فعالیت انواع پراکسیدازها

**فاطمه عرفان منش و فائزه قناتی***

**گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس**

**(تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۲۷، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۳/۰۳)**

**چکیده**

**تولید گونه‌های فعال اکسیژن طی متابولیسم طبیعی سلول‌هایی که تنفس اکسیداتیو دارند صورت می‌گیرد. در بین گونه‌های فعال اکسیژن، هیدروژن پراکسید به‌دلیل داشتن نیمه‌عمر طولانی خطر بیشتری برای حیات سلول دارد اما در عین حال یک مولکول تنظیم‌کننده مهم در سیگنالینگ ردوکس است. پراکسیدازها، از آنزیم‌های کلیدی آنتی‌اکسیدانی هستند که به‌طور گسترده در طبیعت توزیع می‌شوند و اکسیداسیون سوبستراهای مختلف دهنده الکترون را همزمان با تجزیه هیدروژن پراکسید پیش می‌برند و ضمن احیای پراکسید هیدروژن و سایر هیدروپراکسیدها، آب تولید می‌کنند. پراکسیدازها علاوه بر خاصیت مهار پراکسید شناخته‌شده خود، عملکردهای فیزیولوژیکی اکسید-کننده نیز دارند. این آنزیم‌ها براساس شیمی جایگاه فعال در تعامل با پراکسید به پراکسیدازهای هِم دارو غیرهِم دار متمایز می‌شوند. اولی حاوی یک مرکز کاتالیزوری هم است و دومی یک سلنول یا تیول واکنشی در جایگاه فعال خود دارند. پراکسیدازهای گیاهی آهن¬دار به سه کلاس I ، II و III تقسیم می‌شوند. پراکسیدازهای گیاهی تیول‌دار شامل گلوتاتیون پراکسیداز و پروکسی ردوکسین¬ها است. مقاله حاضر به بررسی ویژگی‌های ساختاری، متابولیسمی و نحوه اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی انواع پراکسیدازها می‌پردازد.**

**واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، هیدروژن پراکسید، پراکسیدازهای هم‌دار، پراکسیدازهای تیول‌دار، پراکسی رداکسین**

**مقدمه**

در شرایط امروز جهانی به‌دلیل تغییرات اقلیمی تنش‌های محیطی مانند تنش شوری، خشکی، دمای بالا، فلزات / شبه فلزات سمی، شرایط غرقابی و سیلابی و غیره شدیداً افزایش یافته است (Pereira, 2016). تشدید چنین تنش‌های متنوع غیرزیستی به تهدید مهمی برای تولید پایدار محصولات زراعی تبدیل شده است. در کنار آن، اثرات مضر متعددی از طریق تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) منجر به بروز تنش اکسیداتیو می‌گردد. در سلول زنده، جایگاه‌های اصلی تولید گونه‌های فعال اکسیژن کلروپلاست، میتوکندری، پراکسی‌زوم، آپوپلاست و غشای پلاسمایی است (*Singh* et al., 2019). اگرچه گونه‌های فعال اکسیژن به‌عنوان دستاورد متابولیسم طبیعی سلولی تشکیل می‌شوند، اما تجمع بیش از حد آنها به دلیل ماهیت بسیار فعالشان سبب بروز تنش و وقوع آسیب‌های شدید به اجزای سلولی و ماکرومولکول‌های زیستی از جمله کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها، DNA و غیره می‌گردد (Raja *et al.*, 2017).

گیاهان عمدتاً مجهز به یک مکانیزم دفاعی درونی متشکل از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و انواع پراکسیدازها) و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (آسکوربیک

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ghangia@modares.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

اسید، گلوتاتیون، ترکیبات فنلی و....) هستند. با این حال، در طول شرایط تنش، تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن این تعادل را به‌هم زده و باعث بروز آسیب سلولی، مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول و همچنین کاهش بهره‌وری گیاه می‌گردد (Hasanuzzaman *et al*., 2012).

درمیان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، پراکسیدازها (EC.1.11.1.x) به سبب تنوع در ساختار به‌ویژه در جایگاه فعال، عملکرد، و تنوع در سوبسترا از اهمیت ویژه‌ای برخودارند. پراکسیدازها پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) را تجزیه می‌کنند تا طیف گسترده‌ای از ترکیبات فنلی و همچنین ترکیبات غیرفنلی را اکسید کنند.

تاکنون انواع مختلفی از طبقه‌بندی برای پراکسیدازها معرفی شده است. یکی از رایج‌ترین طبقه‌بندی‌های پراکسیدازها در منابع براساس تحرک ایزوالکتروفورتیکی (IEF) آن‌ها است و بر این اساس آن‌ها به ایزوفرم‌های آنیونی، خنثی و کاتیونی با طیف گسترده‌ای از مقادیر pI (از ۲ تا ۱۱/۶) طبقه‌بندی می‌شوند (Quiroga *et al*., 2000; Dicko *et al*., 2006). ساده‌ترین شکل طبقه‌بندی پراکسیدازها گروه‌بندی آنها براساس جایگاه درون سلولی و سوبسترای اختصاصی آنهاست. که یکی از متداول‌ترین گروه‌بندی‌ها طبقه‌بندی آنها براساس داشتن گروه هم (Haem) یا داشتن تیول در جایگاه فعال خود هستند. پراکسیدازهای هم‌دار شامل سه کلاس، کلاس I شامل آسکوربات پراکسیدازها، کلاسII که به‌طور اختصاصی در قارچ‌ها دیده شده‌اند و کلاس III می‌باشند. پراکسیدازهای تیول‌دار شامل گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسی ردوکسین‌ها هستند.

پراکسیدازهای غیرجانوری، متعلق به کلاس III پراکسیداز، آنزیم‌هایی هستند که در عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متنوع در سلول‌های گیاهی شامل ساخت دیواره، رشد، تمایز و توسعه، کاتابولیسم هورمون‌ها، متابولیسم اکسین، پلیمریزاسیون لیگنین، رشد و رسیدن میوه، بیوسنتز اتیلن، سیستم‌های ردوکس غشای پلاسمایی، پیری و مکانیسم‌های دفاعی در برابر استرس غیرزیستی و زیستی نقش دارند. (Veljovic Jovanovic *et al*., 2018)

## ۱- پراکسیدازهای واجد هم Haem

### ۲-۱- شاخص‌ترین نمونه کلاس I در گیاهان، آسکوربات پراکسیداز (APX)

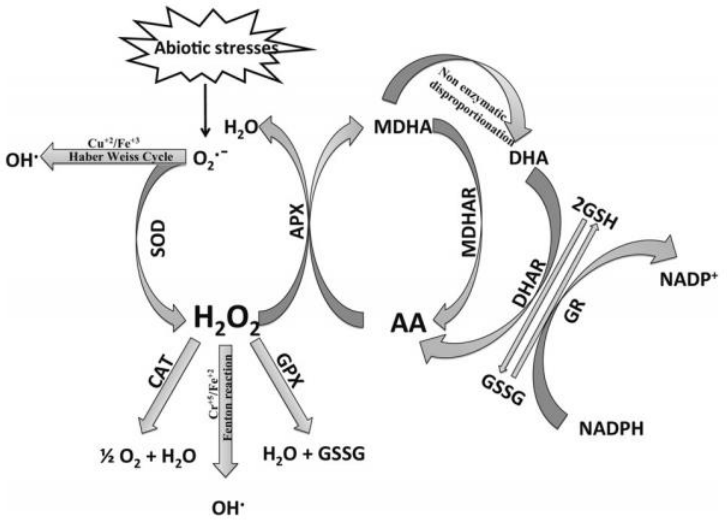
**۲-۱-۱- ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکردی:** این گروه از پراکسیدازها تنها در ارگانیسم‌های حاوی پلاستید مشاهده می‌شوند (Teixeira *et al*., 2004; Passardi *et al*., 2007; Nedelcu *et al*., 2008). اغلب جلبک‌های یوکاریوتی دارای بیش از یک ژن APX هستند اما مطالعات توالی‌یابی ژنوم نشان داده است که هیچ یک از سیانوباکترها حاوی ژن APX نیستند (Maruta *et al*., 2016). در گیاهان عالی‌تر، ایزوفرم‌های APX در سیتوزول، کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم قرار دارند (Shigeoka *et al*., 2002).

ایزوفرم‌های سیتوزولی از طریق جلوگیری از جابجایی $H_2O_2$ در درون سلول نقش مرکزی را در تنظیم احیا سلولی ایفا می‌کنند. ایزوفرم‌های کلروپلاستی خود به دو دسته استرومایی (sAPX) و تیلاکوئیدی (tAPX) تقسیم می‌شوند. در دودمان گیاهان سبز احتمالاً اولین APX تک عملکردی یک آنزیم کلروپلاستی (استرومایی) است. عملکرد این ایزوفرم‌های APX همراه با لایه‌های مختلف سیستم چرخه آسکوربات نظیر مونو دی‌هیدرو آسکوربات ردوکتاز و دی‌هیدرو آسکوربات ردوکتاز (به‌ترتیب MDAR و DHAR) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) است (Gallie, 2013). جفت‌شدن این آنزیم‌ها امکان ارتباط متقابل بین آسکوربات و گلوتاتیون در سیستم مهار کردن $H_2O_2$ که تحت عنوان سیکل آسکوربات-گلوتاتیون نیز شناخته می‌شود (شکل ۱).

تولید ROS در کلروپلاست با زنجیره انتقال الکترون فوتوسنتزی (Photosynthesis electron transport(PET)) در ارتباط است. الکترون‌های خارج‌شده از آب از طریق فتوسیستم‌های یک و دو به $NADP^+$، که پذیرنده نهایی الکترون است منتقل می‌شوند. با این حال، برخی از این

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]




**شکل ۱- چرخه آسکوربات-گلوتاتیون (برگرفته از Gill and Tuteja ۲۰۱۰)**

الکترون‌ها، با اکسیژن واکنش می‌دهند و رادیکال سوپراکسید تولید می‌کنند (واکنش مهلر). این واکنش تحت شرایط استرس‌زای محیطی نظیر تابش بالا تحریک می‌شود. سوپراکسید دیسموتاز مس/روی متصل به غشای تیلاکوئید (Cu/Zn-SOD) رادیکال سوپراکسید را به $H_2O_2$ تبدیل می‌کند که در ادامه توسط tAPX به آب احیا می‌شود. SOD آهن (Fe-SOD) و sAPX به‌عنون لایه دوم مهارکردن ROS در استروما عمل می‌کنند. این سیکل منجر به انتقال الکترون از آب به آب می‌شود و به همین دلیل تحت عنوان سیکل آب-آب (water–water cycle) نیز شناخته می‌شود (Asada, 1999). فرم اکسیدشده آسکوربات که توسط واکنش APX تولید می‌شود، توسط مسیرهای وابسته به $^-$فردوکسین، $^-$گلوتاتیون و NAD(P)H احیا می‌شوند، تمامی این ترکیبات منجر به مصرف بیشتر الکترون‌ها و کاهش احیای بیش از حد PET می‌شود. از این رو، سیکل آب-آب به‌عنوان یک سیستم آنتی‌اکسیدان و یک سیستم برای از بین‌بردن الکترون‌های اضافی از PET در نظر گرفته می‌شود.

**۲-۱-۲- روش سنجش فعالیت APX**: این روش ابتدا در ۱۹۷۹ توسط Kelly& latzco ابداع شد و سپس در سال‌های بعد توسط سایر محققین (Nakano and asada, 1981; Sreenvasula *et al*., 2000) تغییر یافت.

در این روش ابتدا نمونه‌ها در بافر ۵۰ میلی‌مولار سدیم فسفات با pH ۷/۸ حاوی ۵ میلی‌مولار آسکوربات، دی‌تیو تریتیول ۵ میلی‌مولار، EDTA ۵ میلی‌مولار، سدیم کلراید ۱۰۰ میلی‌مولار و پلی‌وینیل پیرولیدون (۲ درصد وزن به حجم) همگن شد. مخلوط حاصل در ۱۵۰۰۰ دور به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شده و از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده می شود.

مخلوط واکنش حاوی کلیه ترکیبات فوق به علاوه هیدروژن پراکسید باغلظت نهایی ۴۴ میکرومولاراست. جذب در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شده و فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب به سبب مصرف آسکوربات سنجیده می‌شود. با در نظرگرفتن ضریب خاموشی (ε) معادل ۲/۸ بر میلی‌مول بر سانتی‌متر، فعالیت آنزیم محاسبه و برحسب میلی‌گرم پروتئین عصاره بیان می‌شود $A=\varepsilon CL$ در فرمول فوق A جذب و L عرض کووت (۱ سانتی‌متر) است.

## ۲- پراکسیدازهای شاخص کلاس III

پراکسیدازهای گیاهی نوع ۳ یک خانواده فراگیر چندژنی از آنزیم‌ها هستند که در تمام بافت‌ها و اندام‌های گیاه حضور دارند و در طیف گسترده‌ای از فرایندهای فیزیولوژیکی نقش دارند (Passardi *et al*., 2007). پراکسیدازها علاوه بر دفاع

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

آنتی‌اکسیدانی، در تمامی مراحل رشد گیاه از جوانه‌زنی تا پیری شامل تشکیل دیواره سلولی ثانویه (Lopez-Serrano *et al.*, 2004; Passardi *et al.*, 2006)، بهبود زخم (Allison and Schultz, 2004)، جوانه‌زنی بذر (Scialabba *et al.*, 2002)، گرده‌افشانی (McInnis *et al.*, 2006)، رسیدن میوه (Pandey *et al.*, 2012)، پیری (Abarca *et al.*, 2001) و کاتابولیسم اکسین و آنتوسیانین (Movahed *et al.*, 2016) نقش دارند. چنین تنوعی از واکنش‌های متابولیکی که با ایزوفرم‌های پراکسیداز تسریع می‌شوند و تعداد زیادی ژن با توالی‌های پروموتوری مختلف، حاکی از عملکرد تخصصی ایزوآنزیم‌ها است.

آسکوربات و گلوتاتیون متابولیت‌های اولیه هستند که همراه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی چرخه آسکوربات–گلوتاتیون (Asc-GSH)، تعادل واکنش‌های اکسیداسیون و احیا را در سلول‌های گیاه حفظ می‌کنند (Foyer and Noctor, 2011). از سویی دیگر، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی که از جمله پیش‌ماده‌های متعدد پراکسیدازها هستند، می‌توانند یک سیستم آنتی‌اکسیدانتی «ثانویه» تشکیل دهند که در شرایط شدید تنش فعال می‌شود (Agati *et al.*, 2012).

یافته‌های اخیر در زمینه توزیع زیرسلولی پراکسیدازها، مواد فنولی و آسکوربات و همچنین انتقال درون سلولی $H_2O_2$ در کنار هم منجر به نظریه‌ای می‌شود که در آن پراکسیداز به‌عنوان مصرف‌کننده مرکزی $H_2O_2$ تحت شرایط تنش شدید بوده و به عنوان بازیگر اصلی در تنظیم مسیرهای دفاعی و متابولیسم ثانویه نقش دارد.

پراکسیدازهای کلاس III، اکسیدو ردوکتازهایی هستند که اکسیداسیون تعداد زیادی از پیش‌ماده‌های مختلف (عمدتاً مواد فنولی) به رادیکال‌های مربوطه را در حضور پراکسید هیدروژن به‌عنوان پذیرنده الکترون، پیش می‌برد. در واکنش انجام‌شده توسط پراکسیداز، رادیکال فنوکسیل (PhO·) با کاهش یک الکترون از ترکیبات فنولی (PhoH) تولید می‌شود (واکنش یک).

(1) $2PhOH + H_2O_2 \rightarrow 2PhO^{\cdot} + 2H_2O$
(2) $2PhO^{\cdot} \rightarrow$ cross-linking
(3) $PhO^{\cdot} + Asc \rightarrow PhOH + MDA^{\cdot}$
(4) $PhO^{\cdot} + MDA^{\cdot} \rightarrow PhOH + DHA$
(5) $2MDA^{\cdot} \rightarrow Asc + DHA$

در غیاب آسکوربات (Asc)،رادیکال‌های فنوکسیل (PhO·) تولیدشده با هم واکنش می‌دهند که منجر به تشکیل پلیمرهایی مانند لیگنین، سوبرین و کوئینون‌ها (Bernards *et al.*, 1999) می‌شود (واکنش دو). یکی از محصولات تولید–شده، رادیکال‌های کوئین– هیدرون است که ازکافئیک اسید، کلروژنیک اسید، کوئینون‌ها و هیدروکوئینون‌های آن‌ها مشتق می‌شود (Takahama and Oniki, 2000). کوئین هیدرون هم می‌تواند با اکسیداسیون خود به خود سبب تولید دیگر گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال سوپراکسید و هیدروکسیل شود و یا با مصرف هیدروژن پراکسید سبب اکسیداسیون آسکوربیک اسید شود (Morina *et al.*, 2010). علاوه‌براین، رادیکال فنوکسیل مشتق‌شده از منوفنول‌ها نظیر پاراکوماریک اسید و فرولیک اسید ممکن است با آسکوربات واکنش داده (واکنش سه) و منجر به تولید رادیکال منودهیدرو آسکوربات (MDA) شده و پیش‌ماده مربوطه را به روشی غیرآنزیمی بازیابی کند. همچنین رادیکال‌های فنوکسیل می‌توانند با MDA واکنش داده (واکنش چهار) و دهیدروآسکوربات (DHA) را تشکیل دهند. بازیافت آسکوربات از طریق واکنش دو مولکول MDA با هم امکان‌پذیر است (واکنش پنج) (Takahama and Oniki, 1992).

همچنین براساس مکانیسمی که توسط Chen و Schopfer (۱۹۹۹) ارائه شده است، پراکسیدازها علاوه بر اکسیداسیون ترکیبات فنولی در طی احیا پراکسید هیدروژن (چرخه پراکسیداتیک)، قابلیت تولید پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) از طریق احیا تک الکترونی اکسیژن مولکولی را نیز دارند (چرخه اکسیداتیو). علاوه‌برآن آهن موجود در بخش هم آنزیم پراکسیداز می تواند به‌عنوان معرف فنتون عمل کرده و در چرخه هیدروکسیلیک، پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) را به هیدروکسیل (OH·) احیا کند.

پراکسیدازها دارای پیش‌ماده‌های متنوعی شامل مواد فنولی،

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

آمین‌ها، ایندول‌ها، آلکالوئیدها و سولفونات‌ها هستند (Ferreres *et al.*, 2011C). رایج‌ترین پیش‌ماده‌ها، مواد فنولی و گلیکوزیدهای آن‌ها هستند که شامل هیدروکسی سینامیک اسیدها، هیدروکسی بنزوئیک اسیدها، هیدروکسیل الکل‌ها (مانند کونیفریل و سیناپیل)، فلاونوئیدهای مختلف (مانند آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها) و کومارین‌ها است.

با این حال، فعالیت پراکسیداز اغلب با استفاده از گایاکول اندازه‌گیری می‌شود که پس از اکسیداسیون با پراکسید هیدروژن محصول رنگی تولید می‌کند. البته با در نظر گرفتن اینکه عصاره پروتئینی، ترکیبی از ایزوآنزیم‌ها است، این اندازه‌گیری را می‌توان به‌عنوان روشی برای تعیین تغییر نسبی در فعالیت پراکسیداز کل تحت شرایط خاص در نظر گرفت. بنابراین، فعالیت ایزوفرم‌هایی با میل ترکیبی متفاوت برای یک پیش‌ماده، ممکن است با اندازه‌گیری میانگین فعالیت کل پراکسیداز مشخص نشود.

بیش از ۹۰ درصد فعالیت گایاکول پراکسیدازی محلول در عصاره‌های گیاهی مربوط به پراکسیدازهای واکوئلی است (با پیش‌ماده‌های فلاونوئیدی، آنتوسیانینی، ایندول آلکالوئیدی) و باقیمانده این فعالیت به پراکسیدازهایی نسبت داده می‌شود که به‌صورت یونی یا کووالانی به دیواره سلولی متصل شده‌اند و پیش‌ماده‌های آنها فرولیک اسیدها و کونیفریل آلدهیدهای آپوپلاستی است (Kitamura, 2006; Zhao, 2015). این پراکسیدازها مسئول سخت‌شدن دیواره سلولی طی تنش‌های متعدد از طریق بیوسنتز لیگنین، سوبرین، ایجاد پل‌های ایزودی تیروزینی در ساختمان اکستنسین و نیز افزایش اتصال‌های عرضی بین قندهای پکتین و اسیدهای فنلی هستند (Ghanati *et al.*, 2005).

**۲-۱- روش سنجش پراکسیدهازهای محلول و دیواره‌ای (گایاکول پراکسیداز و سیرینگالدازین پراکسیداز):** پراکسیداز (PO) استخراج و در سه بخش اندازه‌گیری می‌شود. بخش اول پراکسیداز محلول (SPO)، و بخش دوم پراکسیداز دیواره‌ای شامل پراکسیدازی که با پیوندهای یونی به دیواره متصل است (IPO) و پراکسیداز کووالانی (CPO) که با پیوند کووالانس به دیواره متصل شده است. مورد اول که بیشتر معرف پاسخ تنش است با استفاده از گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون سنجیده می‌شود. پراکسسیداز دیواره‌ای با استفاده از سیرینگالدازین به‌عنوان دهنده الکترون سنجیده می‌شود و بیشتر نشان‌دهنده فرایند لیگنینی‌شدن (lignification) و سوبرینی شدن (Suberization) سلول‌ها است.

برای استخراج پراکسیداز، نمونه‌ها در بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس- مالئات (۶ pH) هموژن شده در دور ۱۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ می‌شوند. مایع رویی مجدداً در دور ۱۸۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و از آن برای سنجش SPO استفاده می‌شود. رسوب سانتریفیوژ اول و دوم به هم اضافه می‌شوند. سپس کلسیم کلراید $CaCl_2$ ۰/۲ مولار به آن اضافه می‌شود و به‌مدت ۲ ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر انکوبه شده و سپس در دور ۱۸۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ می‌شوند. از مایع رویی حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت IPO استفاده می‌شود و رسوب حاصل به‌طور مستقیم برای سنجش CPO مورد استفاده قرار می‌گیرد. مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت بخش محلول پراکسیداز یعنی SPO شامل بافر ۶۰ میلی‌مولار پتاسیم- فسفات (۶/۱ pH)، ۲۸ میلی‌مولار گایاکول و ۵ میلی‌مولار $H_2O_2$ است. افزایش جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومترپس از یک دقیقه ثبت می‌شود و فعالیت SPO به‌صورت تغییر جذب به نسبت میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی بیان می‌شود. پروتئین عصاره به‌طور معمول با روش برادفورد سنجیده می‌شود.

برای سنجش IPO و CPO، رسوبی که در بخش قبل به آن کلسیم کلراید اضافه شده بود سانتریفوژ شده و از بخش رویی آن برای سنجش فعالیت IPO استفاد می‌شود. مخلوط واکنش نهایی (۳ میلی‌لیتر) حاوی ۴۱/۶ نانومولار سیرینگالدازین (سوبسترا خاص برای بیوسنتز لیگنین و سوبرین)، ۴۰ میلی‌مولار بافر تریس- مالئات (۶ pH) و ۱۶ میلی‌مولار $H_2O_2$ است. فعالیت IPO به‌صورت افزایش جذب در ۵۳۰ نانومتر در

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

دقیقه به نسبت میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی بیان می‌شود (Ghanati *et al.*, 2005).

**نکته:** به سبب قلیایی‌بودن عصاره در این قسمت، پروتئین به روش لوری سنجیده می‌شود و روش برادفورد برای سنجش پروتئین این بخش مناسب نیست.

به رسوب حاصل از قسمت قبل یک میلی‌لیتر بافر اضافه شده و درحالی‌که با به‌هم‌زدن مخلوط می‌شود مستقیماً به مخلوط واکنش (۴۰ میلی‌مولار بافر تریس- مالئات (۶ pH) و ۱۶ میلی‌مولار $H_2O_2$) اضافه می‌شود. رسوب خشک و وزن می‌شود. فعالیت CPO به‌صورت افزایش جذب در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر به نسبت وزن خشک دیواره سلولی بیان می‌گردد.

**نکته بسیار مهم:** لازم است که محلول‌های استوک گایاکول و هیدروژن پراکسید در غلظت مناسبی ساخته شوند که با توجه به حجمی که از آنها در مخلوط واکنش وارد می‌شود غلظت نهایی آنها حفظ شود.

**۲-۲- اکسین اکسیداز:** برخی ایزوفرم‌های خاص پراکسیداز دارای فعالیت ایندول ۳- استیک اسید (IAA) اکسیدازی هستند. نشان داده شده است که تمامی ایزوزایم‌های پراکسیداز ترب کوهی (Horseradish peroxidase) توانایی اکسیدکردن IAA را دارند. گرچه اکسین یک آنیون است اما نه تنها آنیون پراکسیدازها بلکه برخی کاتیون پراکسیدازها نیز می‌توانند سبب پراکسیداسیون آن شوند. بنابراین نه تنها کاتیون پراکسیدازهای سیتوزولی بلکه آنیون پراکسیدازهای واکوئلی و دیواره سلولی و غشای پلاسمایی نیز می‌توانند فعالیت اکسیدازی IAA نشان دهند (Mika and Luthje, 2003).

**۲-۲-۱- روش سنجش IAA oxidase:** این روش در دهه ۶۰ میلادی ابداع و تاکنون تغییرات متنوعی پیدا کرده است اما اساس آن استفاده از اکسین به‌عنوان سوبسترا و فریک کلراید (در معرف سالکوفسکی) به عنوان اکسیدکننده آن است.

ابتدا نمونه‌ها دربافر سدیم استات ۵۰ میلی‌مولار با pH ۵/۶ همگن شده و پس از سانتریفوژ شدن در ۱۵۰۰۰ دور دردقیقه، بخش رو به‌عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مخلوط واکنش حاوی ۲۰۰ میکرولیتر بافر سدیم استات مولار با pH ۴/۵، ۳۰۰ میکرولیتر منیزیم کلراید یک میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر دی‌کلرو فنل یک میلی‌مولار، ۳۰۰ میکرولیتر IAA یک میلی‌مولار، ۴۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. مخلوط فوق به‌مدت ۵/۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد اینکوبه می‌شود و سپس ۲ میلی‌لیتر از معرف سالکوفسکی به آن اضافه می‌شود.

معرف سالکوفسکی شامل ۳ میلی‌لیتر از محلول آبی فریک کلراید ۰/۵ مولار است که ۶۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آن اضافه شده است.

مخلوط واکنش به‌مدت نیم ساعت در تاریکی اینکوبه شده و سپس جذب آن در طول‌موج ۵۲۵ نانومتر خوانده می‌شود. مقدار اکسین اکسیدشده در واکنش در مقایسه با منحنی استاندارد ۰-۳۰ میکرومولار اکسین محاسبه شده و فعالیت آنزیم به‌صورت مقدار مصرف اکسین در مدت ۱ دقیقه نسبت به مقدار پروتئین عصاره بیان می‌شود (Pressey, 1990).

### ۳- پراکسیدازهای واجد تیول

این گروه از پراکسیدازها دارای باقیمانده سیستئین یا سلنوسیستئین در جایگاه فعال خود هستند و شامل تیوردوکسین پراکسیدازها (پراکسی ردوکسین‌ها) و گلوتاتیون پراکسیدازها هستند.

**۳-۱- پراکسی ردوکسین‌ها:** پراکسی ردوکسین‌ها (E.C. 1.11.1.15 ;PRX)، پروتئین‌هایی ساده با فعالیت پراکسیدازی بر روی انواع سوبستراهای پراکسیدی مانند آلکیل هیدروپراکسیدها (ROOH) و پراکسی نیتریت (ONOOH) هستند. این پراکسیدازها تقریباً در همه موجودات زنده وجود دارند و یک سلول معمولاً حاوی چندین ایزوفرم از این آنزیم است که به‌طور ویژه‌ای در اندامک‌هایی مانند سیتوسل، میتوکندری، پراکسی‌زوم‌ها، هسته و کلروپلاست‌ها و حتی در فضای خارج سلولی توزیع شده‌اند. همه پراکسی ردوکسین‌ها، حاوی سیستئین "پراکسیداتیک" (Peroxidatic) (CP) در جایگاه فعال خود هستند که توسط سوبسترای پراکسید به سیستئین سولفنیک اسید (CP-SOH) اکسید شده و پراکسید را

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

به ترکیب هیدروکسیلاته مربوطه احیا می‌کند. CP-SOH می‌تواند با احیاگرهای تیول غیر فیزیولوژیکی، مانند دی‌تیول تریتیتول یا بتا مرکاپتواتانول، به CP-SH احیا شود، اما از نظر فیزیولوژیکی گروه سولفنیک با سیستئین دیگری از همان پروتئین ترکیب شده و یک پیوند دی‌سولفید برقرار می‌کند (تیپیکال 2-Cys-PRX). آنگاه دی‌سولفید توسط یک سیستم آنزیمی مبتنی بر تیول مرکب از تیوردوکسین (TRX) و تیوردوکسین ردوکتاز (TRR)، احیا می‌شود. به همین دلیل، پراکسی ردوکسین‌ها، تیوردوکسین پراکسیداز نیز نامیده می‌شوند. (Jeong *et al*., 1999, 2000).

در برخی موارد، سیستئین اکسیدشده توسط یک سیستم مرکب از گلوتاتیون، گلوتاردوکسین (GRX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، احیا می‌شود (1-CYS-PRX). (Pedrajas *et al*., 2010, 2016). در تمامی موارد فوق منبع پروتون NADPH است.

پراکسی ردوکسین‌های 2-Cys، اساساً در تمام اندام‌های گیاه حضور دارند. بیان آنها در نور زیاد به شدت افزایش و در نور کم کاهش می‌یابد (Horling *et al*., 2003). همچنین در حضور احیاگرهایی مانند آسکوربات و GSH سرکوب می‌شوند (Horling *et al*., 2003). گیاهانی که بیان پراکسی ردوکسین‌های 2-Cys در آنها متوقف شده است نشانه‌هایی از آسیب اکسیداتیو را نشان می‌دهند. به نظر می‌رسد محافظت پراکسی ردوکسین‌های 2-Cys کلروپلاستی از بخش فتوسنتزی، با چرخه آب-آب، بسیار کاراتر از مسیر مشخص‌شده آسکوربات پراکسیداز- مهلر باشد (Kangasjarvi *et al*., 2008).

پراکسی ردوکسین‌های گیاهی در مقایسه با آسکوربات پراکسیدازها و کاتالازها، پراکسیدازهای نسبتاً کندی هستند. به علاوه، علیرغم فراوانی، پراکسی ردوکسین‌ها از پراکسیدازهای کم بازده هستند که در بخش‌های سلولی مجزا از جمله کلروپلاست و میتوکندری قرار دارند. به همین سبب سنجش فعالیت آنها مستلزم جداسازی کلروپلاست و میتوکندری مثلاً با گرادیانی از پرکول به‌وسیله سانتریفیوژکردن افتراقی و استفاده از تیوردوکسین خالص به‌عنوان سوبسترا است.

**۳-۱-۱- سنجش پراکسی ردوکسین‌ها:** در یکی از ساده‌ترین روش‌های سنجش فعالیت پراکسی ردوکسین‌ها مخلوط واکنش (حجم نهایی ۲۵۰ میکرولیتر) حاوی بافر هپس ۵۰ میلی مولار (HEPES-NaOH pH 7.0)، دی‌تیو تریتیول ۲۰۰ میکرومولار، پراکسی ردوکسین (۲۵ میکروگرم و هیدروژن پراکسید (۱۰۰ میکرومولار) است و فعالیت آنزیمی به شکل کاهش جذب در ۳۴۰ نانومتر(مصرف هیدروژن پراکسید) نسبت به میلی‌گرم پروتئین عصاره بیان می‌شود.

**۳-۲- گلوتاتیون پراکسیداز (GPX):** گلوتاتیون پراکسیدازهای گیاهی آنزیم‌های فراگیر هستند که در همه بافت‌های گیاهی و در مراحل مختلف نموی وجود دارند (Yang *et al*., 2005) و نقش آنها در سم‌زدایی لیپیدهای پراکسیدشده و دیگر مولکول‌های واکنشگر در تنش‌های مختلف نشان داده شده است (Edwards and Dixon, 2009). ژن‌های GPX گیاهی همولوژی زیادی با گلوتاتیون پراکسیدازهای جانوری دارند. اما پروتئین آنها در جایگاه فعال‌شان به جای سلنوسیستئین سیستئین دارند که می‌تواند دلیل فعالیت‌های کمتر آنها در مقایسه با همتایان آنها در پستانداران باشد (Navrot *et al*., 2006). همچنین پیشنهاد شده است که گیاهان بیشتر از تیوردوکسین پراکسیدازها به‌جای گلوتاتیون پراکسیدازها استفاده می‌کنند (Herbette *et al*., 2002). GPXs با دیگر پروتئین‌ها تعامل دارند و تصور می‌شود که عملکردهای سیگنال‌دهی داشته باشند و نیز به‌عنوان سنسورهای ROS یا سنسورهای ردوکس عمل کنند (Rodriguez Milla *et al*., 2003).

الگوی بیان متفاوت و موقعیت‌های درون‌سلولی GPXs گیاهی نشان می‌دهد که هرایزوفرم کارکردی خاص دارد. آنها در پاسخ‌های استرسی می‌توانند چندین نقش شامل حفظ هموستازی $H_2O_2$ با حذف آن و هیدروپراکسیدهای آلی، مشارکت با سایر پروتئین‌های فعال در استرس مثل SOD، تغییر احیایی پروتئین‌های هسته با کارکردهای سیگنالینگ، مشارکت

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

درارتباط متقابل بین مسیرهای سیگنالینگ مختلف مثل نقش AtGPX1 و AtGPX7 دراسترس فتواکسیداتیو و عفونت پاتوژنی و نقش AtGPX3 در سیگنالینگ $H_2O_2$ و ABA داشته باشند. به این ترتیب GPXs نه تنها می‌تواند از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظ کنند بلکه به‌عنوان مؤلفه‌ای مهم در رشدونمو گیاه با واسطه هورمون‌ها نیزنقش داشته و از این طریق در رشد ریشه‌ها و ریشه‌های جانبی، باززایی گیاه و ارگانوژنز ساقه، نمو برگ گل و دانه و جلوگیری از مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول نقش ایفا کنند. (Bela *et al*., 2015).

**۳-۲-۱- سنجش GPX**: ابتدا نمونه‌ها با استفاده از بافر فسفات سدیم- پتاسیم با (pH ۷) روی یخ ساییده و سپس با دور ۱۵۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. جهت سنجش فعالیت آنزیم، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۴۰۰ میکرولیتر GSH ۰/۱ مولار و ۲۰۰ میکرولیتر از $KNaHPO_4$ ۰/۲ مولار مخلوط شد. مخلوط معرف‌های بالابدون عصاره آنزیمی به‌عنوان شاهد استفاده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند، سپس ۲۰۰ میکرولیتر $H_2O_2$ ۱/۳ مولار به هر یک اضافه شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه به منظور متوقف‌کردن واکنش، ۱ میلی‌لیتر از تری‌کلرو استیک اسید ۱٪ افزوده شده، نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه بر روی یخ قرار گرفتند و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۱۰۰۰ سانتریفوژ شدند. در نهایت مخلوط واکنش حاوی ۴۸۰ میکرولیتر از عصاره، ۲/۲ میلی‌لیتر از $KNaHPO_4$ ۰/۳۲ مولار و ۳۲۰ میکرولیتر از DTNB ۱ میلی‌مولار است و جذب در ۴۱۲ نانومتر خوانده می‌شود (Hartikainen *et al*., 2000).

## منابع


Abarca, D., Martin, M. and Sabater, B. (2001) Differential leaf stress responses in young and senescent plants. Physiologia Plantarum 113: 409-415.

Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. and Tattini, M. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. Plant Science 196: 67-76.

Allison, S. D. and Schultz, J. C. (2004) Differential activity of peroxidase isozymes in response to wounding, gypsy moth, and plant hormones in northern red oak (*Quercus rubra* L.). Journal of Chemical Ecology 30: 1363-1379.

Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 601-639.

Bernards, M. A., Fleming, W. D., Llewellyn, D. B., Priefer, R., Yang, X., Sabatino, A. and Plourude, G. L. (1999) Biochemical characterization of suberization-associated anionic peroxidase of potato. Plant Physiology 121: 135-145.

Bela, K., Horvath, E., Galle, A., Szabados, L., Tari, I. and Csiszar, J. (2015) Plant glutathione peroxidases: Emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. Journal of Plant Physiology 176: 192-201.

Dicko, M. H., Gruppen, H., Hilhorst, R., Voragen, A. G. and van Berkel, W. J. (2006) Biochemical characterization of the major sorghum grain peroxidase. The FEBS Journal 273: 2293-2307.

Edwards, R. and Dixon, D. P. (2009) Selective binding of glutathione conjugates of fatty acid deriva-tives by plant glutathione transferases. Journal of Biological Chemistry 284: 21249-21256.

Ferreres, F., Figueiredo, R., Bettencourt, S., Carqueijeiro, I., Oliveira, J., Gil-Izquierdo, A. and Sottomayor, M. (2011) Identification of phenolic compounds in isolated vacuoles of the medicinal plant *Catharanthus roseus* and their interaction with vacuolar class III peroxidase: an $H_2O_2$ affair? Journal of Experimental Botany 62: 2841-2854.

Chen, S. and Schopfer, P, (1999) Hydroxyl-radical production in physiological reactions. A novel function of peroxidase. European Journal of Biochemistry 260: 726-773.

Foyer, Ch. and Noctor, G. (2011) Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub. Plant Physiology 155: 2–18.

Gallie, D. R. (2013) The role of L-ascorbic acid recycling in responding to environmental stress and in promoting plant growth. Journal of Experimental Botany 64: 433-443.

Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2005) Effects of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system. Plant and Soil 276: 133-141.

Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2005) Deposition of suberin in roots of soybean induced by excess boron. Plant Science 168: 397-405.

Gill, S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.


[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., Teixeira da Silva, J. A. and Fujita, M (2012) Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. In: Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies (eds. Bandi, V., Shanker, A. K., Shanker, C. and Mandapaka, M.) Pp. 261-316. Springer, Berlin, Germany.

Herbette, S., Lenne, C., Leblanc, N., Julien, J. L., Drevet, J. R. and Roeckel-Drevet, P. (2002) Two GPX likeproteins from *Lycopersicon esculentum* and *Helianthus annuus* are antioxidantenzymes with phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and thiore-doxin peroxidase activities. European Journal of Biochemistry 269: 2414-2420.

Horling, F., Lamkemeyer, P., Konig, J., Finkemeier, I., Kandlbinder, A., Baier, M. and Dietz, K. J. (2003) Dependent regulation of expression of the peroxiredoxin gene family in Arabidopsis. Plant Physiology 131: 317-325.

Jeong, J. S., Kwon, S. J., Kang, S. W., Rhee, S. G. and Kim, K. (1999) Purification and characterization of a second type thioredoxin peroxidase (Type II TPx) from Saccharomyces cerevisiae. Biochemistry 38: 776-783.

Jeong, W., Cha, M. K. and Kim, I. H. (2000) Thioredoxin-dependent hydroperoxide peroxidase activity of bacterioferritin comigratory protein (BCP) as a new member of the thiol- specific antioxidant protein (TSA)/alkyl hydroperoxide peroxidase C (AhpC) family. Journal of Biological Chemistry 275: 2924-2930.

Kelly, G. J. and Latzko, E. (1979) Soluble ascorbate peroxidase. Detection in plants and use in vitamin C estimation. Naturwissenschaften 66: 617-618.

Kangasjarvi, S., Lepisto, A., Hannikainen, K., Piippo, M., Luomala, E. M., Aro, E. M. and Rintamaki, E. (2008) Diverse roles for chloroplast stromal and thylakoid-bound ascorbate peroxidases in plant stress responses. Journal of Biochemical 412: 275-285.

Kitamura, S. (2006) Transport of flavonoids. From cytosolic synthesis to vacuolar accumulation. In: The Science of Flavonoids (ed. Grotewald, E.) Pp. 123-146. Springer, New York.

Lopez-Serrano, M., Fernandez, M. D., Pomar, F., Pedreno, M. A. and Ros Barcelo, A. (2004) Zinnia elegans uses the same peroxidase isoenzyme complement for cell wall lignification in both singe-cell treachery elements and xylem vessels. Journal of Experimental Botany 55: 423-431.

Maruta, T., Sawa, Y., Shigeoka, S. and Ishikawa, T. (2016) Diversity and evolution of ascorbate peroxidase functions in chloroplasts: More than just a classical antioxidant enzyme? Plant Cell Physiology 57: 1377-1386.

McInnis, S. M., Desikan, R., Hancock, J. T. and Hiscock, S. J. (2006) Production of reactive oxygen species and reactive nitrogen species by angiosperm stigmas and pollen: Potential signalling crosstalk? New Phytologist 172: 221-228

Mika, A. and Luthje, S. (2003) Properties of guaiacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. Plant Physiology 132: 1489-1498.

Morina, F., Jovanovic, L. J., Mojovic, M., Vidovic, M., Pankovic, D. and Veljovic-Jovanovic, S. (2010) Zinc-induced oxidative stress in *Verbascum thapsus* is caused by an accumulation of reactive oxygen species and quinhydrone in the cell wall. Physiologia Plantarum 140: 209-224.

Movahed, N., Pastore, C., Cellini, A., Allegro, G., Valentini, G., Zenoni, S. and Filippetti, I. (2016) The grapevine VviPrx31 peroxidase as a candidate gene involved in anthocyanin degradation in ripening berries under high temperature. Journal of Plant Research 129: 513-526.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.

Navrot, N., Collin, V., Gualberto, J., Gelhaye, E., Hirasawa, M., Rey, P., et al. (2006) Plant glutathioneperoxidases are functional peroxiredoxins distributed in several subcellular compartments and regulated during biotic and abiotic stresses. Plant Physiology 142: 1364-1379.

Nedelcu, A. M., Miles, I. H., Fagir, A. M. and Karol, K. (2008) Adaptive eukaryote-to-eukaryote lateral gene transfer: Stress-related genes of algal origin in the closest unicellular relatives of animals. Journal of Evolutionary Biology 21: 1852-1860.

Pandey, V. P., Singh, S., Singh, R. and Dwivedi, U. N. (2012) Purification and characterization of peroxidase from papaya (*Carica papaya*) fruit. Appl Biochem Biotech 167: 367-376.

Passardi, F., Bakalovic, N., Teixeira, F. K., Margis-Pinheiro, M., Penel, C. and Dunand, C. (2007) Prokaryotic origins of the non-animal peroxidase superfamily and organelle-mediated transmission to eukaryotes. Genomics 89: 567-579.

Passardi, F., Tognolli, M., De Meyer, M., Penel, C. and Dunand, C. (2006) Two cell wall associated peroxidases from Arabidopsis influence root elongation. Planta 223: 965-974.

Pedrajas, J. R., Mc Donagh, B., Hernandez-Torres, F., Miranda-Vizuete, A., Gonzalez-Ojeda, R., Martinez-Galisteo, E., Padilla, C. A. and Barcena, J. A. (2016) Glutathione is the resolving thiol for thioredoxin peroxidase activity of 1-Cys peroxiredoxin without being consumed during the catalytic cycle. Antioxid Redox Signal 24: 115-128.

Pedrajas, J. R., Padilla, C. A., Mc Donagh, B. and Barcena, J. A. (2010) Glutaredoxin participates in the reduction of peroxides by the mitochondrial 1-CYS peroxiredoxin in *Saccharomyces cerevisiae*. Antioxid Redox Signal 13: 249-258

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

Pereira, A. (2016) Plant abiotic stress challenges from the changing environment. Frontiers in Plant Science 7: 1123.

Pressey, R. (1990) Anions activate the oxidation of indoleacetic acid by peroxidases from tomato and other sources. Journal of Plant Physiology 93: 798-804.

Quiroga, M., Guerrero, C., Botella, M. A., Barcelo, A., Amaya, I., Medina, M. I. and Valpuesta, V. (2000) A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. Plant Physiology 122: 1119-1128.

Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I. and John, R. (2017) Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. Environmental and Experimental Botany 137: 142-157.

Rodriguez Milla, M. A., Maurer, A., Rodriguez Huete, A. and Gustafson, J. P. (2003) Glutathione per-oxidase genes in Arabidopsis are ubiquitous and regulated by abiotic stresses through diverse signaling pathways. The Plant Journal 36: 602-615.

Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. and Weschke, W. (2000) Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). Physiologia Plantarum 109: 435-442.

Scialabba, N., Grandi, C. and Henatsch, C. (2002) Organic agriculture and genetic resources for food and agriculture. In: Biodiversity and the ecosystem approach in agriculture, forestry, and fisheries: satellite event on the occasion of the ninth regular session of the Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture 74-98.

Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. and Yoshimura, K. (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. Journal of Experimental Botany 53: 1305-1319.

Singh, A., Kumar, A., Yadav, S. and Singh, I. K. (2019) Reactive oxygen species-mediated signaling during abiotic stress. Plant Gene 18: 100173.

Takahama, U. and Oniki, T. (1992) Regulation of peroxidase-dependent oxidation of phenolics in the apoplast of spinach leaves by ascorbate. Plant and Cell Physiology 33: 379-387.

Takahama, U. and Oniki, T. (2000) Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: Physiological significance of the redox reactions. Journal of Plant Research 113: 301-309.

Teixeira, F. K., Menezes-Benavente, L., Margis, R. and Margis-Pinheiro, M. (2004) Analysis of the molecular evolutionary history of the ascorbate peroxidase gene family: Inferences from the rice genome. Journal of Molecular Evolution 59: 761-770

Veljovic Jovanovic, S., Kukavica, B., Vidovic, M., Morina, F. and Menckhoff, L. (2018) Class III peroxidases: functions, localization and redox regulation of isoenzymes. Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants 269-300.

Yang, X. D., Li, W. J. and Liu, J. Y. (2005) Isolation and characterization of a novel PHGPx gene in *Raphanus sativus*. Biochim Biophys Acta 1728: 199-205.

Zhao, J. (2015) Flavonoid transport mechanisms: How to go, and with whom. Trends in Plant Science 20: 576-585.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]

# A review of structural properties, metabolic function and measurement of peroxidase activity

**Fatemeh Erfan Manesh and Faezeh Ghanati***

[1] **Department of Plant Biology, Faculty of Biology Science, University of Tehran**
**(Received: 17/05/2022, Accepted: 24/05/2022)**

**Abstract**

The production of reactive oxygen species occurs during the natural metabolism of oxidative-breathing cells. Among reactive oxygen species, hydrogen peroxide is more dangerous to cell life due to its long half-life, meanwhile it is an important regulatory molecule in redox signaling in living things. Peroxidases are one of the key antioxidant enzymes that are widely distributed in nature and promote the oxidation of various electron donor substrates simultaneously with the decomposition of hydrogen peroxide which lead to production of water during reducing hydrogen peroxide and other hydroperoxides. Meanwhile, peroxidases, in addition to their known peroxide inhibitory properties, have physiological oxidizing functions.Based on the chemistry of the active site in the interaction with the peroxide, peroxidases are classified to non-heme and heme bearing peroxidases. The former contains heme in its catalytic center, and the latter has a reactive selenol or thiol in its active site. Iron-based plant peroxidases are divided into three classes I, II and III. Thiol plant peroxidases include glutathione peroxidase and proxy reduxins. The present article explains the structural and metabolic, and properties of peroxidases and provides certain practical procedures for determination of their enzymatic activities.

**Keywords:** Hydrogen peroxide, heme-containing peroxidase, Peroxidase, peroxiredoxins, Thiol peroxidases

Corresponding author, Email: ghangia@modares.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-09-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1401.0.1.4.8 ]