

## **Određivanje aktivnosti sukcinat-dehidrogenaze *in situ* u soju kvasca *Saccharomyces cerevisiae* reakcijom s plavom tetrazolijevom soli**

### **Sažetak**

U ovom je istraživanju razvijen spektrofotometrijski postupak određivanja aktivnosti sukcinat-dehidrogenaze u soju *Saccharomyces cerevisiae* osjetljivom na azid. Propusnost stanica kvasca za 0,05 %-tni digitonin omogućila je ispitivanje enzimske aktivnosti toga soja *in situ*. U prisutnosti fenazin-metosulfata (kao prijenosnika elektrona) i natrijeva azida (koji inhibira enzim citokrom-oksidadu) došlo je do redukcije plave tetrazolijeve soli u plavi tetrazolijev formazan. Optimirani su razni faktori koji utječu na reakciju, kao što su: vrsta supstrata, koncentracija plave tetrazolijeve soli, broj stanica kvasca, temperatura i vrijeme inkubacije, te razni blokatori citokrom-oksidade. U prijašnjim je istraživanjima kao najbolje otapalo za ekstrakciju plavog tetrazolijevog formazana iz stanica kvasca odabran dimetilsulfoksid. U području od  $9 \cdot 10^7$  do  $5 \cdot 10^8$  stanica u otopini uzorka utvrđena je linearna korelacija između gustoće permeabiliziranih stanica kvasca i količine nastalog formazana. Pri količini manjoj od  $10^7$  stanica kvasca vrijednosti apsorbancije bile su premale za precizno utvrđivanje prisutnosti formazana. Ovaj standardni postupak omogućuje procjenu aktivnosti sukcinat-dehidrogenaze u cijelim stanicama, zavisno od vitalnosti kvasaca. Tijekom odvijanja pokusa ustanovljen je značajan porast aktivnosti sukcinat-dehidrogenaze zbog povećanja aktivnosti soja izazvane njegovom prilagodbom uvjetima uzgoja.

*Ključne riječi:* sukcinat-dehidrogenaza, *Saccharomyces cerevisiae*, enzimska aktivnost *in situ*, plava tetrazolijeva sol