

## אפיון פעילות ויציבות אוראז שמקורו ב- *Helicobacter pylori* ברמות חומציות שונות

נופר כהן, נטלי נועם- עמר ויורם גרשמן

*Helicobacter pylori* הוא החיידק הפתוגני השכיח ביותר באוכלוסייה האנושית. הוא שורד בסביבה החומצית של הקיבה הודות לאנזים אוראז, שמפרק אוריאה לאמוניה ולפחמן דו-חמצני, ומבסס הסביבה. האנזים מיוצר בכמות גדולה בציטופלזמת החיידק ופעיל בטווח pH 5.5–8.0. נמצא כי החיידק משחרר אוראז מהתא במנגנון הרס עצמי, שם נקשר לחיידקים סמוכים ומגן עליהם. במחקר זה בחנתי האם הצמדות האנזים לשברי תאים מרחיבה את טווח pH הפעילות ויציבות האנזים. בנוסף בדקתי אם אופרון האוראז מביא לתמותת תאי *E. coli* שנושאים אותו.

גידלנו חיידקי *E. coli* SE5000 שנושאים אופרון האוראז של *H. pylori*. התאים נשברו והופרדו לשתי פרקציות, נוזל עליון (Lysate) ושברי תאים (Pellet). כל אחת מהפרקציות נחשפה לבופרים בטווח pH 3.0–6.5, ה-pH הוחזר לניטרלי, והפעילות האנזימטית נבדקה ע"י כימות תוצר האמוניה. בנוסף נבדקה הפעילות האנזימטית בפרקציות השונות ב-pH שונים. לבסוף, תרחיף תאי SE5000 שנושאים הפלסמידים (P<sup>+</sup>) ושאינם (P<sup>-</sup>) נחשפו לתנאי pH ניטרלי (7) וחומצי (2) ונערך מעקב אחרי העכירות כמדד למספר חיידקים. לבסוף, לאחר החשיפה לרמות חומציות השונות נבדק כמה חלבון שוחרר מהתאים.

בקינטיקת פעילות האוראז כתלות ב-pH, נצפתה שהאנזים בשברי התא היה פעיל יותר ב-pH חומציים, כמו גם לאחר חשיפה לרמות חומציות נמוכות. בעכירות התאים נמצאה עכירות נמוכה יותר ב-pH 2 בחיידקי P<sup>+</sup> לעומת חיידקי P<sup>-</sup>, בעוד ב-pH 7 נצפתה מגמה הפוכה. יותר חלבון השתחרר ב-pH 2 בחיידקי P<sup>-</sup>, וב-pH 7 השתחרר יותר בחיידקי P<sup>+</sup> ב-pH 7.

התוצאות מציעות שהאוראז המצומד לתאים מראה פעילות ועמידות גבוהות יותר לחומציות דומה לזו בנוזל הקיבה. כאשר חיידקי P<sup>+</sup> נחשפו ל-pH 2, נצפתה תמותה וב-pH 7 נצפה גידול. בבדיקת כימות שחרור חלבון מתאי החיידקים נמצא שבחיידקי P<sup>+</sup> ב-pH 2 היה נמוך יותר באופן מובהק מהחלבון שהשתחרר בחיידקי P<sup>+</sup> ב-pH 7 ממצאים אלו מצביעים על מעורבות של חלבוני האופרון בתהליך האוטוליזיס.



נופר כהן : Nofarc11@gmail.com

נטלי נועם- עמר : Nataliea219@gmail.com

יורם גרשמן : Gerchman@research.haifa.ac.il