

# BAKTEERIEN OKSIDAASIAKTIIVISUUS

## TAUSTAA

Työssä tutkitaan mikrobeja ja niiden energia-aineenvaihdunnan entsyymejä. Oksidaasitesillä pystytään toteamaan sytokromi c-oksidaasi –entsyymien (COX) läsnäolo. Se on yksi elektroninsiirtoketjun entsyymeistä, jota löytyy myös tumallisten eliöiden mitokondrioista. COX oksidaasi vastaanottaa elektroninsiirtoketjun elektronit sytokromi c:ltä ja siirtää ne hapelle. Reaktiossa muodostuu vettä.

Työssä käytettävä menetelmä perustuu siihen, että bakteerien elektroninsiirtoketjussa oleva COX pystyy hapettamaan kellertävän N,N,N,N-tetrametyyli-1,4-fenyleenidiamiinin (TMPD) violetiksi reaktiotuotteeksi. Reaktiossa tarvitaan lisäksi happea. TMPD hapettuu ilman hapen vaikutuksesta myös itsestään, joten sitä säilytetään ilmatiiviissä ampulleissa.

Anaerobisilla bakteereilla ei tyypillisesti ole oksidaasiaktiivisuutta, sillä niillä ei ole myöskään elektroninsiirtoketjun entsyymejä. Joillakin bakteereilla COX:n korvaa elektroninsiirtoketjussa toinen entsyymi, joten myös ne ovat oksidaasinegatiivisia. Esimerkiksi monet suolistobakteerit ovat oksidaasinegatiivisia, mutta silti aerobisia tai fakultatiivisia bakteereja.

## POHDITTAVAKSI ENNEN TYÖTÄ

- Mitä elektroninsiirtoketjussa tapahtuu ja mikä on sen merkitys eliöille?
- Miksi reaktiossa tarvitaan happea?
- Ovatko ihmisen solut oksidaasiposiitivisia vai –negatiivisia?

## TARVIKKEET

- Tutkittavia mikrobeja
- Aluslaseja
- Oksidaasireagenssia (Biomerieux, REF 55635) ampulleissa
- Ampullinaukaisija (ohjaaja käyttää)
- Pasteur-pipettejä
- Lasisauvoja tai hammastikkuja

## TYÖTURVALLISUUS

Työssä käsitellään mikrobeja, joten **työtakkia, suojalaseja ja suojahanskoja** on käytettävä koko työn ajan. Juominen ja syöminen ei ole sallittua laboratoriossa! Muista pestä kätesi, kun poistut laboratoriosta.

Mikrobit voidaan hävittää autoklavoimalla tai viemällä ne tappoliuokseen. Kaikki mikrobeja sisältävä jäte kerätään erikseen talteen ja tapetaan ennen hävittämistä.

Ohjaaja annostelee sinulle tarvitsemasi oksidaasireagenssin.

## TYÖOHJE

1. Ohjaaja tiputtaa sinulle yhden pisaran oksidaasireagenssia aluslasille.
2. Hiero aluslasille bakteeripesäkettä lasisauvalla tai hammastikulla.
3. Positiivinen testitulokset näkyy violetin värin kehittymisenä noin 10–30 sekunnin sisällä.
4. Negatiivinen testitulokset havaitaan, jos värinmuutosta ei tapahdu minuutin sisällä.

## POHDITTAVAKSI TYÖN JÄLKEEN

- Miksi oksidaasireagenssia (TMPD) ei saa käyttää uudelleen, jos ampulli on avattu?
- Olivatko tutkimasi bakteerit oksidaasipositiivisia vai –negatiivisia? Mitä se kertoo bakteerien ominaisuuksista?
- Voiko tulosten perusteella päätellä, ovatko bakteerit aerobisia vai anaerobisia?