

9

KALİTATİF VE KANTİTATİF
PROTEİN TAYİNİ

Prof. Dr. Mehmet Akdoğan

Prof. Dr. Fatih Gültekin

Serum Proteinleri

Proteinler, azot, karbon, oksijenin yanı sıra fosfat, kükürt ve diğer bazı elementleri de taşıyan organik bileşiklerdir. Hücrenin kuru ağırlığının $\frac{3}{4}$ ünü oluştururlar. Enzimatik aktivite, savunma, taşıma, depolama, mekanik hareket, mekanik destek, biyolojik sinyal, büyüme ve farklılaşma iletimi gibi fonksiyonlarının yanı sıra yapısal bileşen olarak da davranırlar. Proteinler, amino asit polimerleridir.

Bileşim ve çözünürlüklerine göre basit (albümin, globülin, histon, protaminler) ve bileşik (glikoprotein, mukoprotein, nukleoprotein, fosfoprotein, kromoprotein, lipoprotein ve metalloproteinler)

Şekillerine göre de globuler (çözülebilir, şekillenebilir proteinler; albumin gibi) ve fibriler (sert, kırılğan, çözünemeyen proteinler; kollajen, keratin gibi) olarak sınıflamak mümkündür.

Proteinlerde amino asitleri bir arada tutan veya belirli şekillenmelerini sağlayan kuvvetler ya kuvvetli (peptit bağları, disülfid köprüleri) ya da zayıf (hidrojen bağları, vander Waals kuvvetleri, moleküller arası itme ve çekmeler) karakterde olabilir.

Proteinlerin göstereceği aktivite üç boyutlu yapının bir sonucudur.

Üç boyutlu yapı ise üç veya dört kademeli yapılaşma süreci (primer, sekonder, tersiyer, kuaterner yapı) sonunda kazanılır.

Üç boyutlu yapının bozulmasına denatürasyon denir. Denatüre protein kendisinden beklenen fonksiyonu yerine getiremez.

Denatürasyon, çeşitli faktörlere (ısı, pH, ağır metal tuzları, radyasyon ışınları gibi) bağlı olarak meydana gelir. Bu olay sırasında primer yapı hariç diğer bütün yapılar bozulur.

Reaktifler

1. Serum fizyolojik (%0,9'luk NaCl)
2. Biuret Solusyonu: 3 gr $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ tartıp 100 ml suda çözülür. Ayrı bir kaptan 12 gr $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (sodyum potasyum tartarat) tartılır ve bir miktar suda çözülür. Her iki çözelti birbirine karıştırılır. 2 l'lik bir balon jöjeye aktarılır, üzerine %10'luk NaOH'den 600 ml yavaş yavaş devamlı olarak çalkalanarak ilave edilir, iyice karıştırılır. 2 gr KI (potasyum iyodür ilave edilir ve 2 l'ye saf su ile tamamlanır.
3. %10'luk NaOH 1000 ml

Deneyin Yapılışı:

Kör için bir, Standart için bir, çalışılacak numune sayısı kadar da numuneler için tüp alınır.

Standart hazırlanması: %30'luk bovin serum albümininden 0,1 ml alıp serum fizyolojik ile 0,6 ml'ye tamamlanır. Hazırlanan standardın konsantrasyonu % 5'lidir.

Hesaplanması:

$$\text{Numune Konsantrasyonu (\%gr)} = \frac{\text{Numune absorbanısı}}{\text{Standart absorbanısı}} \times \text{Standart konsantrasyonu (\%5)}$$

KAYNAKLAR

1. Akdoğan M. Tıbbi Biyokimya Pratik Föyü.
2. Tietz, Klinik Kimyada Temel İlkeler. Editörleri: Burtis CA., Ashwood E.R; Çeviri editörü: Aslan D., 2005, Palme Yayıncılık.
3. Klinik Biyokimya El Kitabı. Yazar: İdris Mehmetoğlu, 2013, Nobel Tıp Kitapevleri.
4. Tıbbi Biyokimya Uygulamaları. Yazarlar: Nuri Bakan, F.Zuhal Umudum, Akar Karakoç. 2012, Aktif Yayınevi.
5. Veteriner Laboratuvar Teknikleri ve Prensipleri. Yazarlar: Arif Altıntaş, Ulvi Reha Fidancı, Tevhide SEL, Gülşen YILMAZ, Mert PEKCAN, 2011, Anadolu Üniversitesi Yayını.