

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №4

MAVZU: FOL, SAKAGUCHI, ADAMKEVICH REAKSIYALARI.

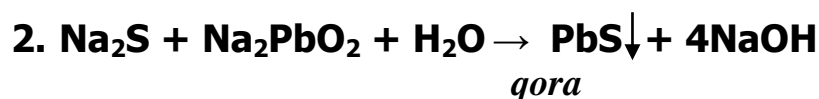
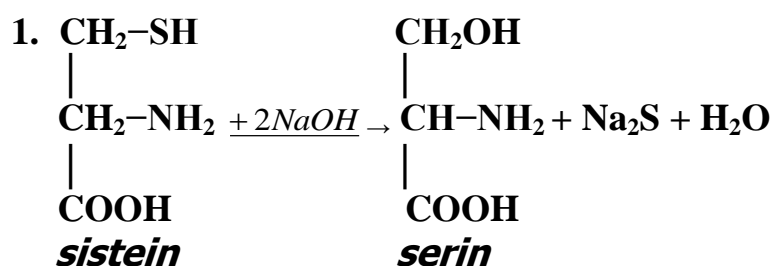
Darsning maqsadi: Oqsillarga xos rangli reaksiyalar haqida ma'lumotga ega bo'lish laboratoriya tajribalari asosida Foli, Sakaguchi, Adamkevich reaksiyalari haqida egallangan bilimlarni mustahkamlash, ko'nikmalarni hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, spirt lampa yoki gaz gorelka, pipetkalar, tuxum oqsilining 1% li eritmasi, 5 marta suyultirilgan qon zardobi, bug'doy oqsilining 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II)-sulfatning 1% li eritmasi, alanin eritmasi, ningidrinning 0,5% li eritmasi, tirozining 0,1% li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislotasi, fenolning 0,1% li eritmasi, Millon reaktivi, natriy gidroksidning 30% li eritmasi, qo'rg'oshin asetatning 5% li eritmasi, argininning 0,05% li eritmasi, naftolning spirtidagi 0,1% li eritmasi, natriy gipobromitning 2% li eritmasi, triptofanning 0,05% li eritmasi, muz – sirka kislotasi, konsentrlangan sulfat kislotasi.

1-tajriba. Fol reaksiyasi.

Foli reaksiyasi yordamida oqsillar molekulosi tarkibida kuchsiz bog'langan oltingugurt bo'lgan aminokislotalar sistein va sistinni aniqlashga imkon beradi. Metionin oltingugurt bilan kuchli bog'langanligi uchun bu reaksiyani bermaydi. Metioninni nitroprussid reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin.

Oqsil eritmasini ishqor bilan qizdirilganda oltingugurt sekingina ajralib, natriy sulfid hosil qiladi. Aralashmaga natriy plyumbit yoki qo'rg'oshin asetat qo'shilsa, qora rangli qo'rg'oshin sulfid cho'kmasi hosil bo'ladi. Reaksiya quyidagicha ketadi:



Qora rangning ravshanlik darajasi eritmadagi oqsilning konsentratsiyasiga hamda oqsil molekulasidagi sistein va sistinning miqdoriga bog'liq.

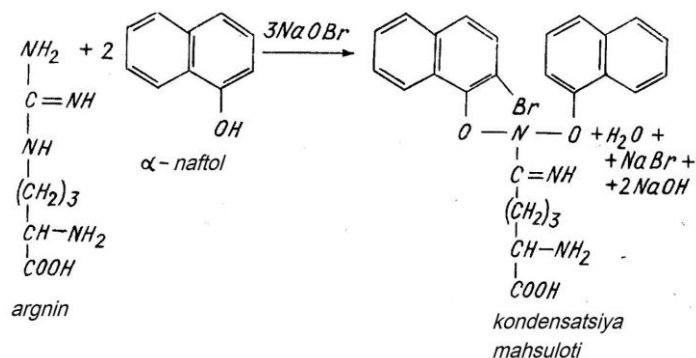
Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1% li bug'doy yoki soya oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 1% li jelatina eritmasidan quyib, ularning ustiga 5 tomchi 30% li natriy gidroksid va 1-tomchi 5% li qo'rg'oshin asetati qo'shib, yaxshilab qaynatiladi va 1-2 daqiqa qoldiriladi.

Birinchi ikkita probirkadagi aralashma qorayadi va qora rangli PbS cho`kmasi hosil bo`ladi. Uchinchisining rangi o`zgarmaydi, chunki jelatina tarkibida oltingugurt bor aminokislotalarga ega emas.

2-tajriba. Sakaguchi reaksiyasi.

Sakaguchi reaksiyasi guanidin NH – C(NH) – NH₂ gruppaga xos reaksiya bo`lib, bunda turli oqsillar yoki polipeptidlar ishqoriy sharoitda gipobromid va α - naftol bilan reaksiyaga kirishib, qizil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiyaning unumi oqsillar tarkibidagi arginin aminokislotasiga bog`liq.

Arginin gipobromid ta'sirida α-naftol bilan kondensatsiyalanadi. Reaksiya vaqtida brom α - naftol molekulasidagi naftalin yadrosining β - holatiga o`tadi:

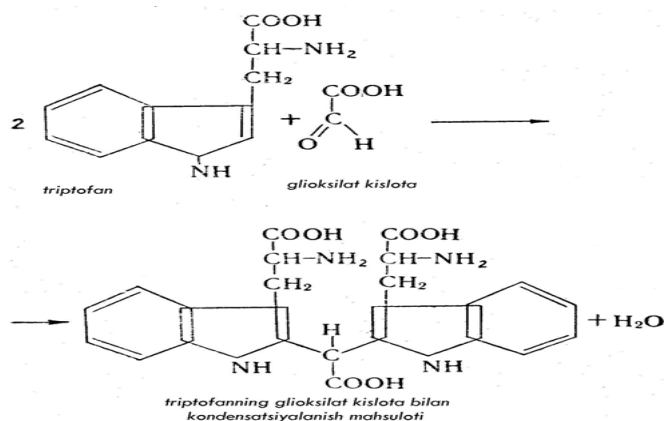


Reaksiya faqat argininga xos bo`lmasdan, balki tarkibida guanin gruppasi bor boshqa moddalar ham Sakaguchi reaksiyasini berishi mumkin. Lekin bu birikmalar oqsil tarkibida uchramaydi, shuning uchun reaksiyaga halaqit bermaydi.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug`doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 0,05 % li arginin eritmasidan quyib, hamma probirkalarga 5 tomchidan 10 % li o`yuvchi natriy, 3 tomchi α -naftolning 0,1 % li spirtidagi eritmasi va (1 dan 5 tomchigacha) 2 % li gipobromid eritmasidan tomiziladi. Probirkalardagi suyuqlik qizil rangga kiradi. Ortiqcha miqdordagi gipobromid reaksiyaga halaqit beradi.

3-tajriba. Adamkevich reaksiyasi.

Adamkevich reaksiyasi indol halqasi uchun xos bo`lib, oqsillar va polipeptidlar kons entrlangan sulfat kislota ishtirokida glioksil kislota bilan qizg`ish – binafsha rang beradi. Bu reaksiya oqsillar tarkibidagi triptofanga bog`liq bo`lib, kislotali muhitda glioksil kislotaning aldegid gruppasi bilan reaksiyaga kirishib, rangli moddalar kondensati hosil bo`ladi. Reaksiya mexanizmini quyidagicha ifodalash mumkin:



Glioksilat kislota doimo oz miqdorda muz-sirka kislota tarkibida bo`ladi, shuning uchun bu kislota glioksilat kislota olinadigan manba sifatida ishlatiladi. Hosil bo`lgan rangning ravshanlik darajasi oqsil tarkibidagi triptofaning miqdoriga bog`liq.

Ishning bajarilishi. 4 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug`oy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi jelatina, to`rtinchisiga 5 tomchi 0,05 % li triptofan eritmasidan quyib, ularning har biriga 5 tomchidan muz-sirka kislota quyiladi. Probirkalardagi suyuqlik sekin-asta qizdiriladi, so`ngra sovutilgach, ohistalik bilan probirka devor bo`ylab 10 tomchidan konsentrlangan sulfat kislota tomiziladi. Bir oz turgandan keyin 1; 2- va 4 – probirlarda 2 qavat suyuqlik chegarasida qizg`ish – binafsha rang paydo bo`ladi. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomiga quyilsa, rangning rivojlanishi tezlashadi. Jelatina molekulosida triptofan bo`lmaganligi uchinchi probirkada rang paydo bo`lmaydi.