

15-Laboratoriya ishi

Oqsillarni og'ir metall tuzlari ta'sirida cho'ktirish

(Laboratoriya ishi)

Oz miqdordagi og'ir metall tuzlari ta'sirida oqsillar cho'kmaga tushadi. Rux, mis, kumush, simob va boshqa og'ir metallar bilan o'zaro ta'sirlashgan oqsil ularni adsorbsiyalaydi va ular bilan tuzsimon kompleks birikma tuzlarini hosil qiladi. Bu tuzlarning ortiqcha miqdori (kumush nitrat, simob (II) xlorid tuzlaridan tashqari) hosil bo'lgan cho'kmani, oqsil zarrachasida musbat zaryad hosil bo'lgani uchun eritib yuboradi. Ammo bu cho'kma suvda erimaydi. Og'ir metall tuzlari bilan zaharlangan bemorlarni davolashda oqsilning og'ir metall tuzlari bilan suvda erimaydigan kompleks birikmalarni hosil qilish xususiyatidan foydalaniladi. Zaharlangan bemorga ko'p miqdorda oqsil (sut, qatiq, tuxum) beriladi va hosil bo'lgan kompleks birikma parchalanib so'rilishga ulgurmasdan tezda organizmdan chiqariladi (qustirish, me'dani yuvish, huqna qilish orqali).

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi:

Reaktivlar: mis (II) sulfat tuzining 1% li eritmasi, qo'rg'oshin atsetat tuzining 5 – 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, shisha tayoqchalar, tomizgichlar (pipetka).

Bajariladigan ish tartibi. 1. Oqsillarni mis sulfat bilan cho'ktirish. 5 tomchi tuxum oqsili eritmasiga ohistalik bilan 1-2 tomchi mis sulfatning 1% li eritmasi solinadi. Bunda och havo rang cho'kma hosil bo'ladi, cho'kma suvda erimaydi. Boshqa probirkaga yuqoridagidek reaktivlar solinadi, hosil bo'lgan cho'kma ustiga yana 5-10 tomchi mis sulfat eritmasi solinadi. Ortiqcha miqdordagi eritma cho'kmani eritib yuboradi.

2. Oqsillarni qo'rg'oshin atsetat bilan cho'ktirish.

5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi 5% li qo'rg'oshin atsetat eritmasi solinadi. Hosil bo'lgan cho'kma suvda erimaydi, ammo ortiqcha miqdordagi cho'ktiruvchi eritmada oson eriydi.

Oqsillarni konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish

(Laboratoriya ishi)

Oqsillar konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida qaytmas denaturatsiya holatiga o'tadi. Oqsilning cho'kmaga tushishi oqsil zarrachalarining suv qobig'i yemirilishi va oqsil-kislota kompleks tuzlari hosil bo'lishi bilan bog'liq. Barcha kislotalarning ortiqcha miqdori (nitrat kislotadan boshqa) cho'kmani eritadi. Ortofosfat kislota oqsilni cho'kmaga tushirmaydi. Oqsillarning nitrat kislota bilan cho'kmaga tushirilishi tibbiyot amaliyotida keng qo'llaniladi. Bu usul bilan siydik tarkibidagi oqsil miqdori aniqlanadi. (Roberts – Stolnikov – Brandberg usuli).

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: konsentrlangan nitrat va sulfat kislota.

Kerakli anjomlar: probirkali shtativlar va pitetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Nitrat kislota bilan oqsillarni cho'ktirish. 5 tomchi konsentrlangan nitrat kislotaga probirkani 45° burchakka og'dirgan holda 5 tomchi oqsil eritmasi ohistalik bilan tomiziladi. Suyuqliklar bir-biri bilan aralashmasligi kerak.

Ikkala suyuqlik chegarasida ingichka oq halqa – oqsil cho'kmasi hosil bo'ladi. So'ngra suyuqliklar aralashtirilib, yana ortiqcha miqdordagi nitrat kislota qo'shiladi. Cho'kmaning erimasligi kuzatiladi.

2. Oqsillarni sulfat kislota bilan cho'ktirish. Sulfat kislota bilan cho'ktirish ham nitrat kislota bilan cho'ktirish kabi o'tkaziladi. 5 tomchi konsentrlangan sulfat kislotaga ohistalik bilan probirka devori bo'ylab oqsil eritmasi quyiladi. Bunda cho'kma hosil bo'ladi. Unga ortiqcha miqdorda sulfat kislota qo'shilganda cho'kma erib ketadi.

Oqsillarni organik kislotalar bilan cho'ktirish

(Laboratoriya ishi)

Organik kislotalar ham oqsillarni cho'ktirib, qaytmas denaturatsiya holatini yuzaga keltiradi.

Uchxlorsirka kislota va sulfosalitsil kislotalar oqsilga sezgir bo'lganligi sababli amaliyotda keng qo'llaniladi. Sulfosalitsil kislota siydik tarkibidagi kam

miqdordagi oqsilni ham aniqlash imkonini beradi. Shuningdek, bu kislota yordamida boshqa biologik suyuqliklar, ekssudatlar tarkibidagi oqsillarni aniqlanishi mumkin. Bu kislotaning sezgirligi 1:50000 dir. Sulfosalitsil kislota oqsillardan tashqari uning parchalanish mahsulotlari – yuqori molekulyar pepton va polipeptidlarni ham cho‘kmaga tushira oladi.

Uchxlorsirka kislota esa faqat oqsillarni cho‘kmaga tushirib, ularning parchalanish mahsulotlarini cho‘kmaga tushira olmaydi. Shuning uchun bu kislota qon oqsillarini quyi molekulali moddalardan ajratishda ishlatiladi (aminokislotalar, polipeptidlar). Oqsilsiz azot qoldiqlarini uchxlorsirka kislota yordamida aniqlashda oqsil azoti va oqsilsiz azotni alohida aniqlash mumkin. Oqsillar cho‘kmaga tushirilgach, filtratni qaynatish yo‘li bilan uchxlorsirka kislotadan holi bo‘linadi. Bunda uchxlorsirka kislota xloroform va karbonat angidridga parchalanadi.

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi

Reaktivlar: sulfosalitsil kislotaning 20% li eritmasi, uchxlorsirka kislotaning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. Sulfosalitsil kislota ta’sirida cho‘ktirish. 5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi 20% li sulfosalitsil kislota eritmasi solinadi. Oqsil cho‘kmaga tushadi.

Uchxlorsirka kislota ta’sirida cho‘ktirish. 5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi uchxlorsirka kislota eritmasi solinadi. Oqsil cho‘kmaga tushadi.

Oqsillarni organik erituvchilar ta’sirida cho‘ktirish

(Laboratoriya ishi)

Spirt, atseton, efir va boshqa shu kabi organik erituvchilarda oqsil erimaydi, balki u cho‘kmaga tushadi. Oqsil tabiatiga ko‘ra spirtning turli konsentratsiyasi talab qilinadi. Spirt oqsil zarrachasining suv pardasini yemirib, uning eritmadagi holatini turg‘unsizlantiradi.

Spirt ta’sirida cho‘ktirilayotgan oqsil kuchsiz kislotali yoki neytral holatda bo‘lishi kerak. Ushbu reaksiya elektrolit natriy xlorid ishtirokida yaxshi ketadi, chunki u oqsil zaryadini kamaytiradi. Oqsil cho‘kmasi qaytar holatda bo‘lishi uchun

spirt qisqa muddatda past haroratda ta'sir ettiriladi. Spirtning uzoq muddat ta'sir etishi qaytmas holat – denaturatsiyaga olib keladi.

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: etil spirti yoki atseton.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkadagi 5 tomchi oqsil eritmasiga 15-20 tomchi etil spirti (yoki atseton) to'yingan natriy xlorid eritmasi tomizilganda bir ozdan so'ng cho'kma tushgani kuzatiladi.

Olingan natijalarni 4.4.5.1-jadvalga binoan rasmiylashtiring.

4.4.5.1-jadval

Oqsilni cho'ktiruvchi moddalar	Reaktivlar	Cho'kmaning xossasi va rangi	Reaksiyalarning asoslanishi va xususiyatlari

Bajarilgan ish yuzasidan chiqarilgan xulosalar.

4.4.6.Oqsillarni natriy xlorid va natriy sulfat tuzlari ta'sirida cho'ktirish

(Laboratoriya ishi)

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reativlar: natriy xloridning mayda kukuni, ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi va mayda kukuni, sirka kislotaning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, shtativlar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. Oqsillarni natriy xlorid tuzi bilan cho'ktirish – tuzlash. Probirkaga 20 tomchi oqsil eritmasi solinadi. Unga natriy xlorid kukunidan eritma to'yinguncha, ya'ni qo'shilgan tuz eriguncha qo'shiladi. Bir necha daqiqa o'tgach globulinlar cho'kmasi hosil bo'ladi.

Probirkadagi aralashma filtrdan o'tkaziladi. Bunda albuminlar filtr tagidagi suyuqlikka o'tadi. Ular hatto natriy xlorid bilan to'yintirilganda ham neytral eritmalarda cho'kmaga tushmaydi.

Albumin tutuvchi eritmaga (filtratga) bir tomchi sirka kislotaning 1% li eritmasidan solib qaynatilganda kuchsiz kislotali muhitda albuminlar cho'kmaga tushadi. Bir necha daqiqa o'tgach ushbu eritma filtrdan o'tkaziladi. Filtrat oqsil qolmaganligini isbotlash uchun biuret reaksiyasi o'tkaziladi. Reaksiyaning manfiyligi oqsil yo'qligini ko'rsatadi.

Oqsillarni ammoniy sulfat bilan tuzlash

20 tomchi oqsil eritmasiga 20 tomchi to'yingan ammoniy sulfat eritmasi solib aralashitiriladi. Yarim to'yingan ammoniy sulfat eritmasi hosil bo'lishidan globulinlar cho'kmaga tushadi. 5 daqiqa o'tgach probirkadagi eritma filtrdan o'tkaziladi.

Filtratga albuminlar o'tadi. Unga ammoniy sulfat kukunidan to'yinguncha, ya'ni tuzning yangi qo'shimchasi eriguncha solinadi. Albumin cho'kmaga tushadi. Albumin filtrdan o'tkaziladi. Filtratda oqsil qolmaganligini isbotlash uchun biuret reaksiyasi o'tkaziladi.

Olingan natijalarni quyidagi 4.4.6.1-jadvalga binoan rasmiylashtiring. Musbat natijani «+», manfiy natijani «-» ishorasi bilan belgilang.

4.4.6.1-jadval

Oqsillarni tuzlash usuli bilan cho'ktirish

Ishlatilgan oqsil eritmasi va oqsil fraksiyalarining nomi	Natriy xloridning to'yingan eritmasida cho'kadigan oqsillar	Natriy xlorid bilan tuzlashdan so'ng kuchsiz kislotali muhitda cho'kadigan oqsilning nomi	Yarim to'yintirilgan ammoniy sulfat eritmasida cho'kmaga tushgan oqsil nomi	Ammoniy sulfatning to'yingan eritmasida cho'kmaga tushgan oqsil nomi

Bajarilgan ish yuzasidan chiqariladigan xulosa.

Tuzlangan oqsil eritmalaridan tuz va oqsillarni tozalash (ajratish).

Tuzlash usuli bilan cho'ktirilgan oqsillar odatda tuzlardan gel-filtratsiya yoki dializ usuli yordamida tozalanadi. Bu usullar yordamida oqsil va tuzlarning turli xil molekula ajratish xossasiga ega ekanligi aniqlanadi.