

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ Ν.
ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ (Ε.Κ.Φ.Ε)
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

Θέμα: ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ
(άσκηση 7 του εργαστηριακού οδηγού)
Μέσος χρόνος πειράματος: 45 λεπτά

A. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ



Ø	Εργαλεία	Ø	Υλικά	Ø	Διαλύματα - Χρωστικές
§	Λύχνος οينوπνεύματος ή Bunsen	§	Ασπράδι αυγού	§	Υδροχλωρικό οξύ HCl αραιό
§	Τρίποδας	§	4 δοκιμαστικοί σωλήνες	§	Αιθανόλη (καθαρό οινόπνευμα του εμπορίου)
§	Πλέγμα θέρμανσης	§	Στήριγμα δοκιμαστικών σωλήνων	§	Απιονισμένο νερό
§	Ξύλινη λαβίδα δοκιμαστικών σωλήνων	§	Ποτήρι βρασμού 100ml	§	Ξύδι
		§	Ποτήρι βρασμού 500ml για υδατόλουτρο.		
		§	Ράβδος ανάδευσης		

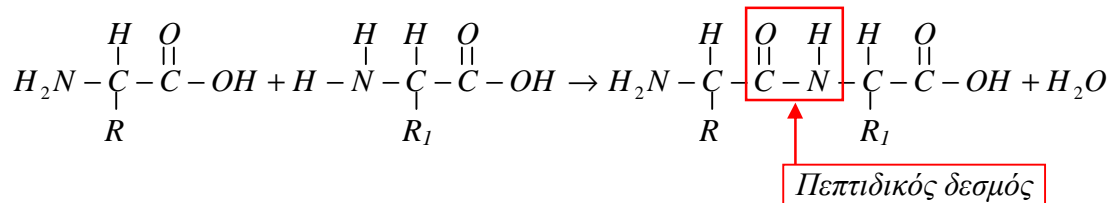
B. ΣΚΟΠΟΙ

1. Η κατανόηση της σημασίας των δεσμών ανάμεσα στις πλευρικές ομάδες για τη στερεοδιάταξη των πρωτεϊνών.
2. Να διαπιστώσουν οι μαθητές ότι η μετουσιωμένη πρωτεΐνη έχει χάσει την λειτουργικότητά της.

Γ. ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ ΘΕΩΡΙΑΣ

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλες και πολύπλοκες οργανικές ενώσεις (μακρομοριακές - πολυμερή), τις οποίες τις ταξινομούμε με κριτήριο την λειτουργία τους, σε **δομικές** (αποτελούν δομικά υλικά του κυττάρου, π.χ. το ασπράδι του αυγού που περιέχει την πρωτεΐνη αλβουμίνη) και **λειτουργικές** (συμβάλλουν σε κάποιες λειτουργίες, π.χ. τα ένζυμα).

Οι δομικοί λίθοι (τα μονομερή των πρωτεϊνών) είναι τα αμινοξέα. Έχουν προσδιοριστεί πάνω από 170 αμινοξέα, από τα οποία μόνο 20 αποτελούν το συστατικό των πρωτεϊνών. Τα διαδοχικά αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους με πεπτιδικό δεσμό και σχηματίζουν πολυπεπτιδικές αλυσίδες.



Κάθε πολυπεπτιδική αλυσίδα μπορεί να περιέχει πάνω από 1000 αμινοξέα. Οι πρωτεΐνες παράγονται στο κυτταρόπλασμα και συγκεκριμένα στα ριβοσώματα όπου ξεκινούν ως απλές μη διακλαδωμένες αλληλουχίες αμινοξέων, δηλαδή πεπτιδίων ή πολυπεπτιδίων, σχηματίζοντας την **πρωτοταγή δομή**, για την οποία καθοριστικός παράγοντας είναι η αλληλουχία των αμινοξέων στην πολυπεπτική αλυσίδα. Την αλληλουχία αυτή την καθορίζουν τα νουκλεϊκά οξέα, τα οποία και φέρονται να ελέγχουν όλες τις λειτουργίες αλλά και τα κληρονομικά γνωρίσματα των οργανισμών. Στη συνέχεια όλα τα πρωτεϊνικά μόρια υφίστανται μια φυσική αναδιάταξη προκειμένου να δώσουν μια **δευτεροταγή δομή** η οποία προκαλείται από δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των καρβοξυλομάδων και των αμινομάδων των αμινοξέων. Κατά τη δευτεροταγή δομή δε λαμβάνονται υπ' όψιν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται και αποκτά ελικοειδή ή πτυχωτή μορφή.

Οι πρωτεΐνες υφίστανται ακόμα ποιο περίπλοκο δίπλωμα (πτύχωση) το οποίο καλείται **τριτοταγής δομή**. Με τον όρο τριτοταγή δομή, εννοούμε το τελικό και λειτουργικό σχήμα που αποκτά η πρωτεΐνη μετά κι από την αλληλεπιδράση των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων.

Τέλος, υπάρχουν και πρωτεΐνες που αποτελούνται από πολλές πολυπεπτιδικές αλυσίδες που είναι χαλαρά ενωμένες και αυτό αποτελεί τη λεγόμενη **τεταρτοταγή δομή**. Παράδειγμα είναι η αιμοσφαιρίνη.

Η ποικιλία των πρωτεϊνών είναι πάρα πολύ μεγάλη. Αυτό οφείλεται στο ότι δύο πρωτεΐνες μπορεί να διαφέρουν μεταξύ τους δομικά ή λειτουργικά,

- είτε γιατί έχουν διαφορετική αλληλουχία των αμινοξέων,
- είτε γιατί έχουν διαφορετικό αριθμό αμινοξέων,
- είτε γιατί τα αμινοξέα κατανέμονται σε δύο ή περισσότερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες,
- είτε γιατί η διάταξή τους στο χώρο είναι διαφορετική.

Το τελικό σχήμα των πρωτεϊνών μπορεί να είναι ινώδες ή σφαιρικό (σφαιρική είναι η πρωτεΐνη αλβουμίνη στο ασπράδι του αυγού, και ινώδης το κολλαγόνο του συνδετικού ιστού).

Δ. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

1. Αρίθμησε μια σειρά από 4 δοκιμαστικούς σωλήνες και τοποθέτησέ τους στο στήριγμα (1,2,3,4).



2. Πρόσθεσε το ασπράδι του αυγού σε ένα ποτήρι βρασμού των 100ml.



3. Στον δοκιμαστικό σωλήνα 2 πρόσθεσε, μέχρι την μέση, απιονισμένο νερό και θέρμανε σε υδατόλουτρο, μέχρι τον βρασμό.



4. Απέσυρε τον σωλήνα από το υδατόλουτρο και πρόσθεσε μικρή ποσότητα ασπραδιού.



5. Αραίωσε το υπόλοιπο ασπράδι με διπλάσια ποσότητα νερού.



6. Ανακίνησε το περιεχόμενο με τη ράβδο ανάδευσης έτσι ώστε να ομογενοποιηθεί κατά το δυνατόν το μίγμα.



7. Στους δοκιμαστικούς σωλήνες 1, 3 και 4 πρόσθεσε ποσότητα του μίγματος μέχρι το μέσον του κάθε σωλήνα.



8. Πρόσθεσε στο περιεχόμενο του σωλήνα 3 σταγόνες υδροχλωρικού οξέος μέχρι να σχηματιστεί μια λευκή ζώνη στο όριο των δύο διαλυμάτων.



9. Πρόσθεσε στο περιεχόμενο του σωλήνα 4 διάλυμα αιθανόλης (καθαρό οινόπνευμα) ή λίγες σταγόνες ξύδι, μέχρι να σχηματιστεί μια λευκή ζώνη στο όριο των δύο διαλυμάτων.

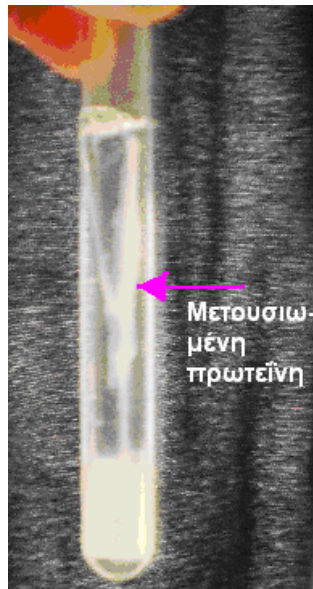
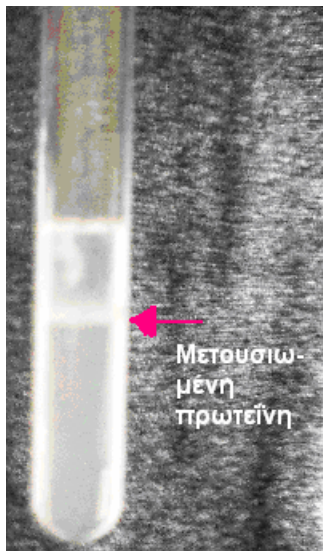


10. Σύγκρινε το περιεχόμενο των σωλήνων 2,3,4 με αυτό του 1 που περιέχει αραιωμένο ασπράδι αυγού. Παρατήρησε τι συμβαίνει σε κάθε σωλήνα και σημείωσε το σε αντίστοιχο φύλλο εργασίας.



Ε. ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗ

Παρατηρούμε ότι στα σημεία επαφής των δύο διαλυμάτων στους αντίστοιχους σωλήνες 3 και 4 δημιουργείται μια **λευκή ζώνη**, ενώ στον σωλήνα 2 μία **Λευκή μάζα**. Η ζώνη αυτή στους σωλήνες 3 και 4 και η μάζα στον 2, αποτελείται από την μετουσιωμένη πρωτεΐνη αλβουμίνη. Η μετουσίωση της πρωτεΐνης οφείλεται στην καταστροφή των δεσμών, που σχηματίζονται μεταξύ των πλαγίων ομάδων R των αμινοξέων. Στην ουσία ξεδιπλώνεται η διπλωμένη πρωτεΐνη.



Οι πρωτεΐνες διαλύονται κυρίως σε ισχυρά πολικά μέσα, όπως το νερό, την αμμωνία κ.α. Για μια ορισμένη τιμή pH του διαλύματος, η πρωτεΐνη έχει ίσο αριθμό θετικών και αρνητικών φορτίων και συνολικά το μόριό της είναι ηλεκτρικά ουδέτερο (ισοηλεκτρικό σημείο). Ακραίες μεταβολές του pH προς τη μία ή την άλλη κατεύθυνση, οδηγούν σε σπάσιμο των δεσμών ανάμεσα στις πλευρικές ομάδες, καταστρέφοντας τη δομή της πρωτεΐνης. Το ίδιο συμβαίνει με ακραίες μεταβολές της θερμοκρασίας.

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ

Η παραπάνω άσκηση μπορεί να συνδυαστεί και με ανίχνευση πρωτεϊνών.