

Přílohy

Příloha 1– Ukázka metodického listu

Téma: Xantoproteinová reakce a její podstata

Úkol:

Navrhněte způsob zkoumání podstaty xantoproteinové reakce na základě fragmentace molekuly proteinu.

Teoretická část:

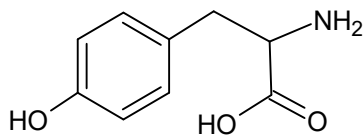
Xantoproteinová reakce je reakce proteinů – bílkovin s konc. kyselinou dusičnou. Při reakci vzniká žlutý produkt, který po následném přidání roztoku hydroxidu sodného přechází na tmavě žlutý. Tato reakce náleží v biochemii k jednoduchým zkumavkovým testům na přítomnost bílkovin v analyzovaném vzorku. Jaká je podstata této reakce, to může být zodpovězeno na základě zkoumání struktury molekuly proteinů. Bílkoviny jsou přírodní látky, které náleží mezi biopolymery. Bílkovinný řetězec je tvořen různými aminokyselinami, které jsou vzájemně spojeny peptidickou (amidovou) vazbou, jedná se tedy o přírodní polyamidy. K objasnění xantoproteinové reakce je použito fragmentace molekuly proteinu na aminokyseliny a následné fragmentace molekuly aminokyseliny a přiřazení konkrétních sloučenin jednotlivým fragmentům.

Základem výzkumu je pak testování aminokyselin a sloučenin odvozených od fragmentů aminokyselin. Je tedy provedena reakce

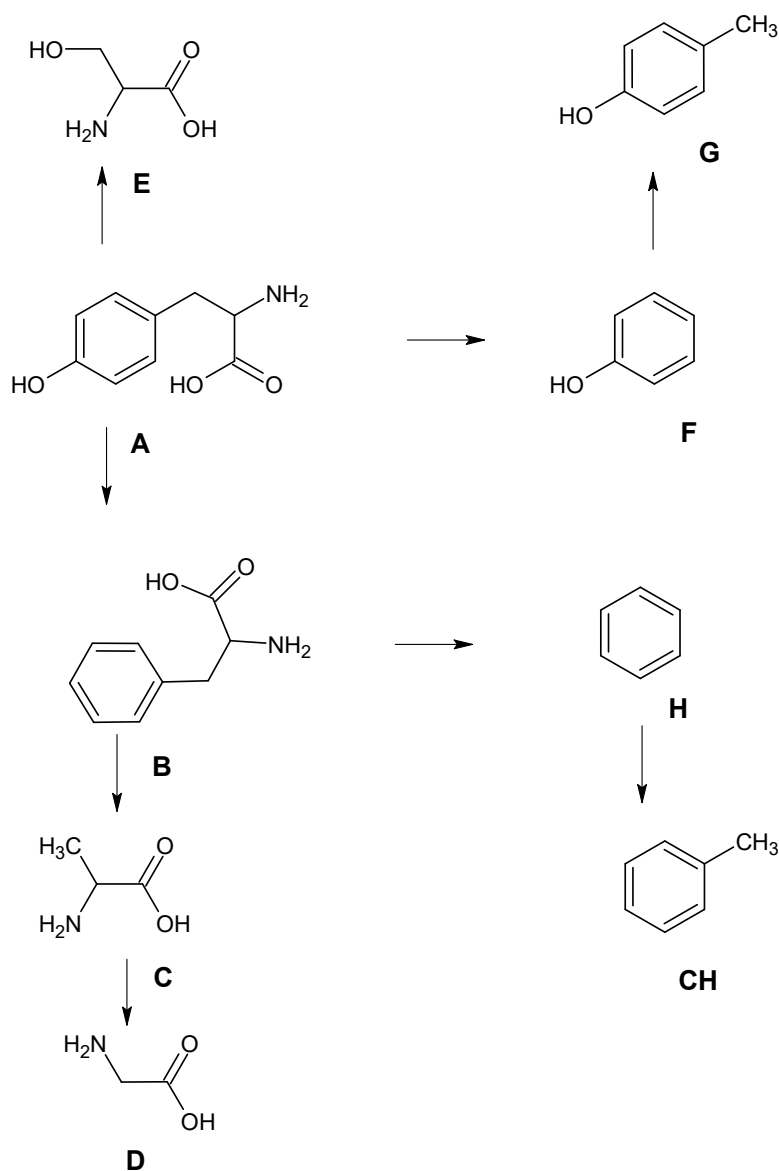
- 1) Bílkoviny s konc. kyselinou dusičnou
- 2) Aminokyseliny s konc. kyselinou dusičnou
- 3) Sloučenin odvozených od fragmentů aminokyselin s konc. kyselinou dusičnou

Je nezbytné provést fragmentaci molekuly tyrosinu a přiřadit jednotlivým fragmentům příslušné sloučeniny. Na závěr se provede reakce těchto sloučenin s konc. kyselinou dusičnou

Tyrosin



Fragmentace molekuly tyrosinu a přiřazení sloučenin jednotlivým fragmentům



Pomůcky a chemikálie:

Porcelánová kapkovací destička, koncentrovaná kyselina dusičná, 5% roztok hydroxidu sodného, tyrosin, glycin, alanin, serin, fenylalanin, 4-metylfenol, fenol, toluen, benzen, peptidy (glutathion) a bílkoviny (albumin), univerzální pH papírek, špachtle, skleněná pipetka, skleněná tyčinka

Postup:

- 1) Do jamek kapkovací destičky připravte vodné roztoky albuminu, glutathionu, tyrosnu, glycinu, alaninu, serinu, fenylalaninu, fenolu a 4-metylfenolu špachtlí naneste do označené jamky malé množství aminokyselin, peptidů a bílkovin (postačí

množství na špičku špachtle), ke každému vzorku přidejte pipetkou 1 – 2 kapky vody a směs opatrně promíchejte tyčinkou.

- 2) Do druhé keramické destičky předložte několik kapek toluenu a benzenu (test s toluenem a benzenem se z důvodu bezpečnosti práce provádí za účasti vyučujícího)
- 3) Ke vzorkům postupně přidávejte 1-2 kapky konc. kyseliny dusičné, obsah jamek promíchejte, pozorujte vznik zbarvení.
- 4) Do jamek s barevným produktem přidejte několik kapek 5% vodného roztoku hydroxidu sodného a pozorujte změnu zbarvení (pH papírkem sledujte, zda reakční směs je alkalická).

Závěr:

Vyhodnoťte průběh dílčích testů, provedených v rámci experimentu a určete, které části molekuly tyrosinu jsou odpovědné za barevný průběh reakce s konc. kyselinou dusičnou.

| Sloučenina | Vznik barevného produktu | |
|------------------|--------------------------|----|
| A – tyrosin | ANO | NE |
| B – fenylalanin | ANO | NE |
| C – alanin | ANO | NE |
| D – glycin | ANO | NE |
| E – serin | ANO | NE |
| F – feol | ANO | NE |
| G – 4-metylfenol | ANO | NE |
| H – benzen | ANO | NE |
| CH – toluen | ANO | NE |
| glutathion | ANO | NE |
| albumin | ANO | NE |

- 1) Pokuste se objasnit chemickou podstatu pozitivního i negativního průběhu testu u jednotlivých sloučenin.
- 2) Určete, které části molekuly tyrosinu mohou být zodpovědné za barevný průběh reakce s konc. kyselinou dusičnou a své tvrzení se pokuste zdůvodnit.
- 3) Jaká je dle vašeho názoru příčina zintenzivnění žlutého zbarvení vzorků po přidání roztoku hydroxidu sodného.
- 4) Popište a zdůvodněte výsledky testu s albuminem a glutathionem .
- 5) Vysvětlete, proč za definovaných podmínek s konc. kyselinou dusičnou reaguje tyrosin a u fenylalaninu barevná reakce neprobíhá.