

### DENEY 2.3.: Protein Sindirimi

**Teorik Bilgi:** Besinlerle alınan proteinlerin hemen hepsi et ve sebze kaynaklıdır. Bu proteinler birbirine, peptid bağlarıyla bağlı uzun amino asit zincirlerinden meydana gelir. Her proteinin özelliğini, protein molekülündeki amino asitler ile bunların organizasyonları belirler.

Proteinlerinde kendilerine özgü sindirim enzimleri mevcuttur. Proteinleri sindiren enzimlere *proteazlar* ya da *proteolitik enzimler* denir. Bu enzimler aktivasyon açısından ortam pH'sı, sıcaklığı ve substrat konsantrasyonundan etkilenirler. Hepsinin optimum aktivite gösterdiği bir pH ve sıcaklık değeri vardır. Bu enzimler son derece aktif olduklarından, salgılandıkları dokulara neden zarar vermedikleri düşünülebilir. Bunun sebebi, proteolitik enzimlerin sindirim faaliyeti dışında, inaktif enzim öncülleri (*proenzim-zymogen*) halinde bulunmasıdır. Bunlar ancak protein substratlarının sindirimi aşamasında, bazı aktivatör bileşiklerinde etkisiyle aktif formlarına dönüşebilirler.

En çok bilinen proteazlar pepsin, tripsin, kimotripsin, katepsin, renin ve papain dir. Örneğin, pepsinin inaktif formu pepsinojen, tripsinin tripsinojen, kimotripsinin ise kimotripsinojen dir.

Midenin protein sindiren enzimi olan pepsin, pH 2-3 de optimum aktivite gösterirken, pH 5 in üzerinde tamamen inaktiftir. Bu nedenle pepsinin aktif olarak protein sindirimine katılabilmesi için mide sıvısının asit karakterli olması gerekir. Mide sıvısının asit özelliğini, mide bezleri tarafından yoğun olarak salgılanan hidroklorik asit (HCl) vermektedir. Bu asit oksintik (pariyetal) hücrelerden salgılandığı zaman pH sı 0.8 civarındadır. Fakat mide içeriği ile ve oksintik hücreler dışında mide bezlerinden salgılanan salgularla karıştıktan sonra pH 2-3 değerlerine yükselir. Bu ise pepsin aktivitesi için oldukça uygundur. Pepsin, besinlerle alınan farklı tipteki proteinlerin çoğunu sindirebilir. Pepsin aktivitesinin önemli bir özelliği, öteki sindirim enzimlerinden çok az etkilenen bir albüminoid olan kolajeni sindirmesidir. Kolajen ette bulunan, intersellüler bağ dokusunun önemli bir komponentidir. Sindirim kanalındaki enzimlerin, ette bulunan hücresel proteinlere ulaşip, onu sindirebilmeleri için önce kolajen liflerinin sindirilmesi gereklidir. Bu nedenle midesinde pepsin aktivitesi zayıf olan kişilerin yediği et, sindirim enzimlerinin hücresel proteinlere erişememesi sonucu, tam olarak sindirilemez.

Pepsin protein sindirimini başlatmasına rağmen, total protein sindiriminin en fazla % 10-30 kadarını sağlar. Bu safhada proteinler, amino asitlerin arasındaki bağların hidrolizi ile parçalanır.

Protein sindiriminin en büyük bölümü ince bağırsaklarda, pankreas sıvısının proteolitik enzimlerinin etkisiyle ortaya çıkar. Proteinler mideden ayrıldıkları sırada başlıca pepton, proteos ve büyük polipeptidler halinde bulunurlar. Kısmen sindirilmiş olan bu ürünler, bağırsağa geçer geçmez, pankreastan gelen tripsin, kimotripsin ve karboksipolipeptidaz enzimlerinin etkisiyle karşılaşır. Tripsin ve kimotripsin, protein moleküllerini küçük polipeptidlere parçalayabilir, karboksipolipeptidazlar ise daha sonra amino asitleri polipeptidlerin karboksil ucundan ayırır.

İnce bağırsaktaki fırçamsı kenar, villi epiteline ulaşan dipeptidlerin kalan bağlarını ve öteki küçük polipeptidlerin son bağlarını hidrolize eden ince bağırsak epitelyal peptidaz enzimlerini taşır. Bu enzimler aminopolipeptidaz ve çeşitli dipeptidazlardır. Proteolitik enzimlerin tümü mide salgısı, pankreas salgısı ve ince bağırsak epitelyal hücrelerinde bulunan enzimler, peptid bağlarının hidrolizinde, peptid bağlarının tipine

özgü aktivite gösterirler. Belirli amino asit çiftleri arasındaki bağlar enerji ve öteki fiziksel karakteristikleri yönünden birbirinden farklıdır. Bu çeşit bağ tipleri için özel enzimler gereklidir. Bu ise proteolitik enzimlerin çok çeşitli olmasını gerektirir.

**Amaç:** Proteolitik bir enzim olan pepsinin, bir protein substratı üzerindeki sindirim aktivitesinin farklı pH ortamlarında incelenmesi.

**Materyal:** Pepsin çözeltisi (0.004 lük), jelatin veya fibrin, HCl çözeltisi (0.002 lik), NaOH çözeltisi (0.01M), damıtık su, tüp, porttüp, benmari (sıcak su banyosu), cam kalemi, termometre, pipet.

**Metot:**

1. Üç adet deney tüpü olarak numaralandırınız.
2. Sırasıyla:

1.tüpe: Küçük bir parça jelatin (fibrin) + 2 ml damıtık su + 1 ml pepsin çözeltisi.

2.tüpe: Küçük bir parça jelatin (fibrin) + 2 ml HCl çözeltisi + 1 ml pepsin çözeltisi.

3.tüpe: Küçük bir parça jelatin (fibrin) + 2 ml NaOH çözeltisi + 1 ml pepsin çözeltisi

ilave ediniz.

3. Tüpleri porttüpe koyarak, 35-40 C° lik benmari içine yerleştiriniz.
4. Yaklaşık 15-20 dakika bekleyiniz.
5. Bu süre sonunda tüplerinizi, porttüp ile birlikte benmariden çıkartınız.
6. Her bir tüpte gözlediğiniz sonuçları nedenleriyle birlikte kaydederek, açıklayınız.
7. Yaptığınız bu deneyde pepsin çözeltisi yerine, pankreatin çözeltisi kullanabilirdiniz? Şayet kullanırsanız deney sonuçlarınızda ne gibi değişiklikler meydana gelirdi, açıklayınız.
8. Böyle bir deneyin 90-100 C° ler arasında yapılması, deney sonuçlarını ne şekilde etkiler, açıklayınız.
9. Böyle bir deneyde kullanılan substrat miktarı arttırılırsa deneyi ne şekilde etkiler, açıklayınız.