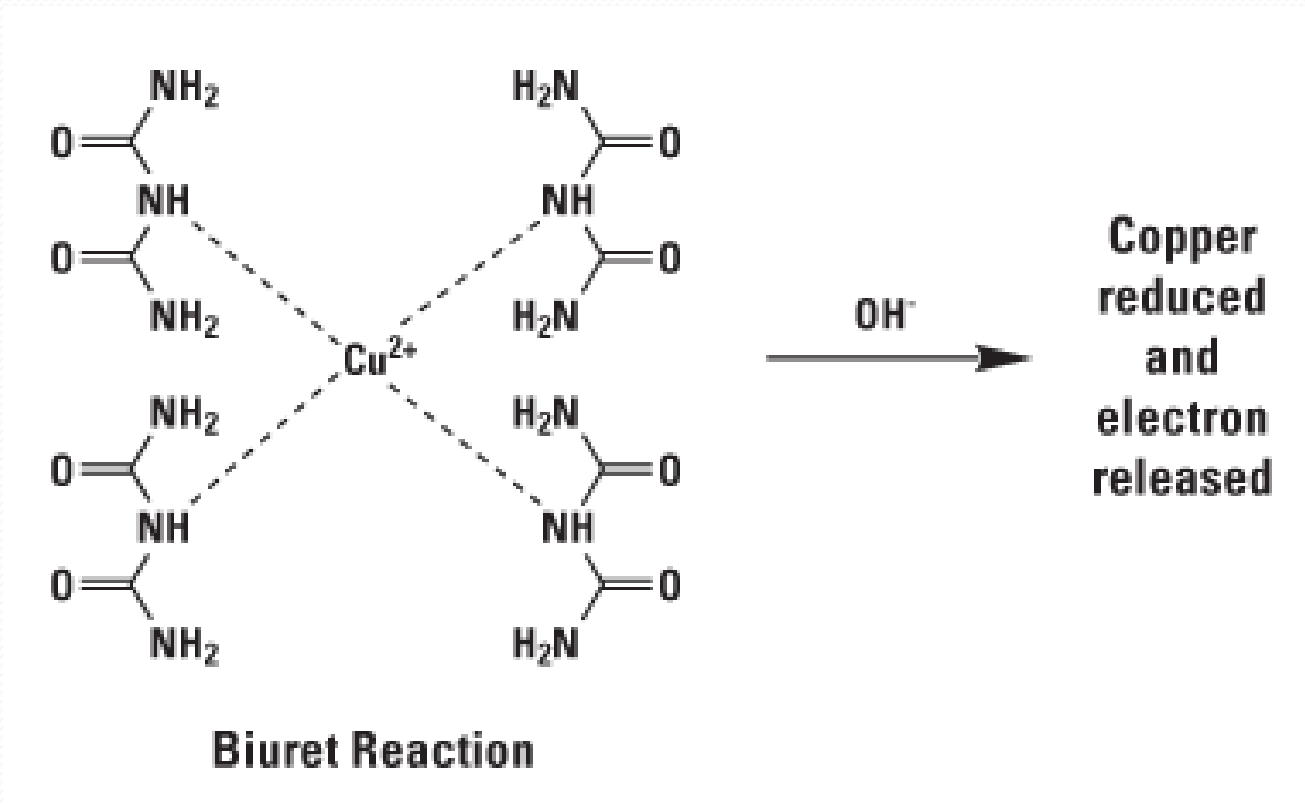


# 3. HAFTA

- KANTİTATİF PROTEİN TAYİNLERİ
- Kantitatif biüret reaksiyonu
- Lowry yöntemi
- Bikinkoninik asit yöntemi
- Bradford yöntemi

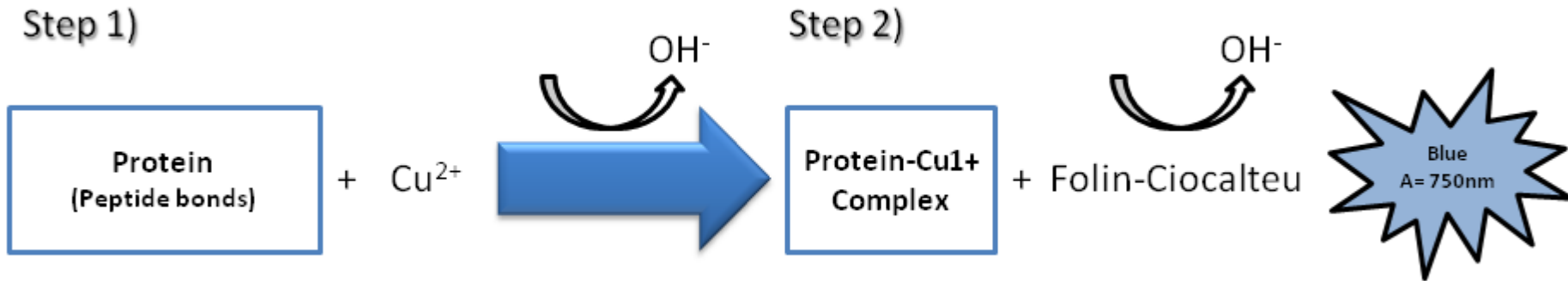
# Kantitatif biüret reaksiyonu

- 20 mg/mL duyarlıkta çalışan bir yöntemdir.
- Alkali koşullarda  $\text{Cu}^{2+}$  iyonlarının amonyum, aminoasitler, peptidler, proteinler ve biüretler gibi amonyumlu bileşiklerle mavi-mor renkli kompleks oluşturması esasına dayanır.
- Protein ve peptidlerde iki peptid bağı oluşumuna katılan 4 azot atomu ile biüret ayırıcından gelen  $\text{Cu}^{2+}$ 'nin renkli kompleks oluşturması söz konusudur. Oluşan bu kompleks **540-560 nm** dalga boyunda azami absorbans verir.
- Biüret bileşiği yapı olarak peptid bağına benzer bir maddedir ve  $\text{Cu}^{2+}$  iyonları ile proteinlerin verdiği reaksiyona benzer bir renkli kompleks oluşturur. Bu nedenle kullanılan yöntem Biüret Yöntemi, kullanılan çözeltiye de Biüret Ayıracı adı verilir.



<https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/chemistry-protein-assays.html>

- Alkali ortamda bakır iyonu ( $\text{Cu}^{2+}$ ) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve bakır indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan tirozin, triptofan ve sistein aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Renk şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 660 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

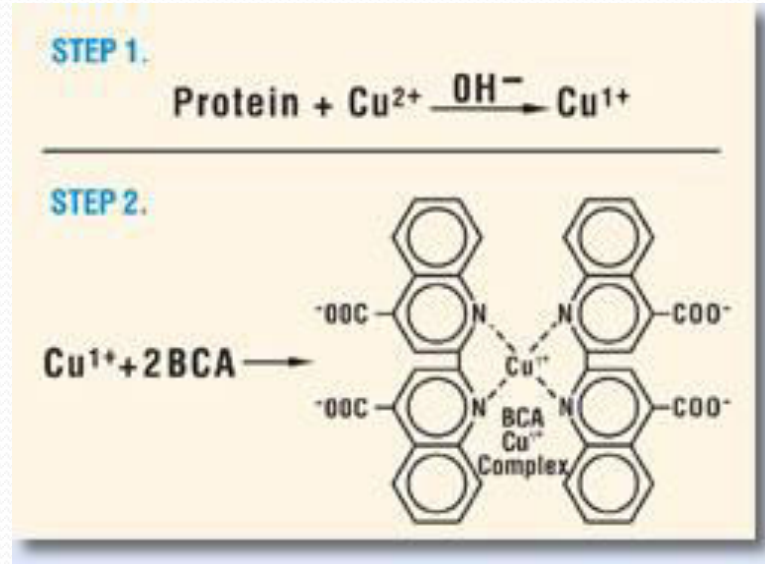


# Bikinkoninik

# asit

# yöntemi

- Diğer proteşn tayin tekniklerine nispeten yeni bir tekniktir.
- Rekatif olarak bikinkoninik asit (BAC) kullanılır.
- Bu yöntem alkali ortamdaki biüret reaktifiyle indirgenen bakır katyonlarının BCA ile indirgenmesi esasına dayanır. Oluşan renkli kompleks 562 nm'de ölçülür.



# Bradford yöntemi

- Mavi renkli kompleksin teşekkülü için kantitatif olarak tayin edilen protein örneğindeki amino asit bileşimi (özellikle arjinin gibi bazik amino asitler ve aromatik amino asitler) önemlidir. Reaksiyon esası, oluşan renkli kompleksin 595 nm dalga boyunda maksimum absorbanans vermesidir.

