

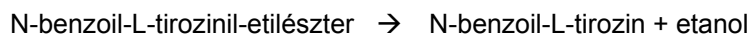
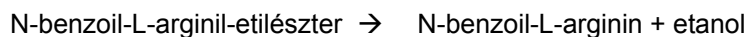
## A TRIPSZIN ÉS KIMOTRIPSZIN SZUBSZTRÁT SPECIFICITÁSÁNAK JELLEMZÉSE

A tripszin és a kimotripszin a pancreas által termelt endopeptidázok, amelyek a vékonybélben a táplálék fehérjéinek emésztésében játszanak szerepet.

A pancreasban a peptidázok inaktív (proenzim) formában (tripszinogén, ill. kimotripszinogén) termelődnek. A pancreas nedvvel a duodénumba jutva a tripszinogén amino-terminális végéről az enteropeptidáz - melyet a duodénum epithel sejtjei termelnek - egy hexapeptidet hasít le, aminek következtében a proenzim aktív tripszinné alakul. A keletkezett tripszin egyrészt autokatalitikusan aktiválja a tripszint, másrészt meghatározott peptidkötések hasítása révén a kimotripszinogént aktív kimotripszinné alakítja.

Mivel a tripszin a pancreas által termelt proenzimek aktiválásában kulcsszerepet tölt be, ezért nagy jelentőséggel bír az a körülmény, hogy a pancreasban egy kis molekulatömegű polipeptid is szintetizálódik, ami specifikusan kötődve inaktiválja a sejtben, illetőleg a pancreas vezetékben idő előtt képződött tripszint.

A tripszin a fehérjékben a lizin, illetve arginin karboxi-csoportjaival, a kimotripszin az aromás aminosavak karboxi-csoportjaival alkotott peptidkötéseket hasítja el. Mindkét enzim észter kötéseket is hasít, ezért a tripszin, illetve a kimotripszin mesterséges szubsztrátokat használva a következő reakciókat is katalizálja:



Az enzimek ezen tulajdonságát használjuk fel a gyakorlaton a szubsztrát specificitás tanulmányozására.

A reakció során szabaddá váló karboxil-csoport megsavanyítja a közeget. Az alkalmazott tripszin, illetve kimotripszin szubsztrát segítségével eldönthető, hogy egy ismeretlen proteáz tartalmú oldat tripszint és/vagy kimotripszint tartalmaz.

### Oldatok

1. "A" proteáz oldat
2. "B" proteáz oldat
3. 0,4 mM TRIS-HCL puffer, pH 9
4. 2 mM N- $\alpha$ -benzoil-L-arginil-etilészter
5. 2 mM N-  $\alpha$ -benzoil-L-tirozinil-etilészter
6. fenolvörös indikátor oldat: lúgos közegben vörös, savas közegben sárga

### A kísérlet kivitelezése

Oldatok (ml)	1	2	3	4
TRIS puffer	0,3	0,3	0,3	0,3
Arginin-észter	0,2	-	0,2	-
Tirozin-észter	-	0,2-	-	0,2
Fenolvörös oldat	0,1	0,1	0,1	0,1
"A" proteáz	0,1	0,1	-	-
"B" proteáz	-	-	0,1	0,1
Színváltozás				

Rázza össze alaposan a csövek tartalmát, majd inkubálja azokat szobahőmérsékleten. Figyelje meg, hogy melyik csőben lát színváltozást, melyikben nem. Értelmezze a kísérleti eredményeket.