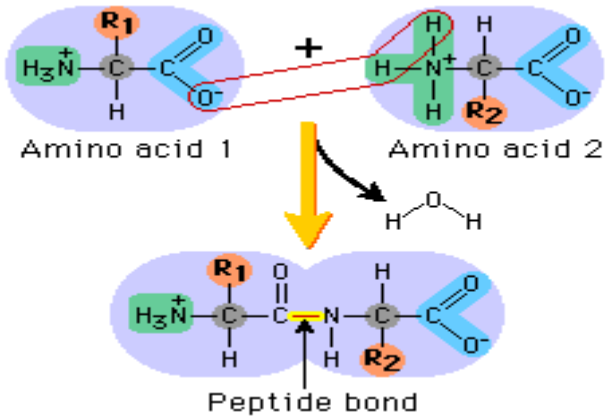
(3)
البروتينات -1-
proteins

ما هي البروتينات (proteins)؟

التركيب الكيميائي للبروتين:

- البروتينات مركبات عضوية ذات أوزان جزيئية كبيرة(macromolecules) .

- وهي عبارة عن **سلسلة من الأحماض الأمينية** المرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية و فيها ترتبط مجموعة الكربوكسيل في حمض أميني مع مجموعة الأمين في حمض أميني آخر مع إزالة جزئ ماء.

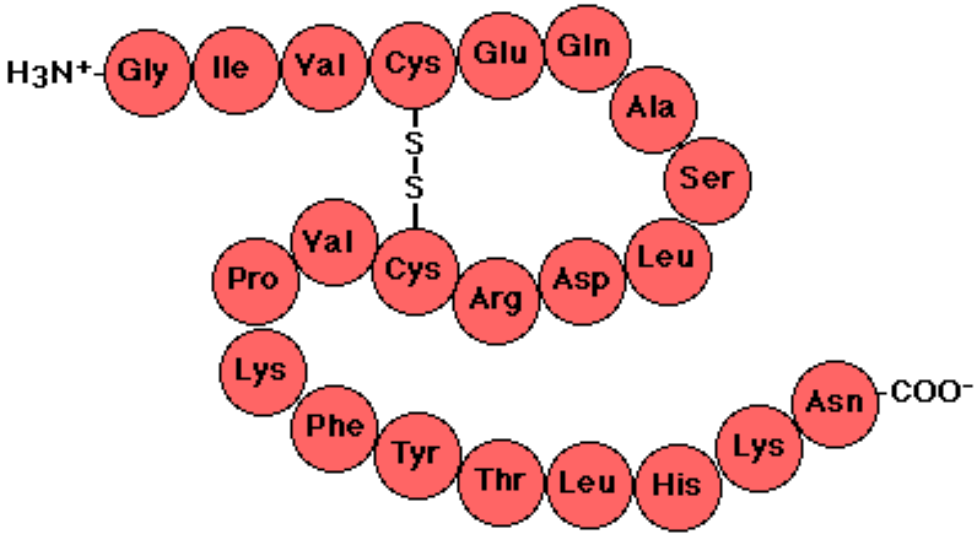


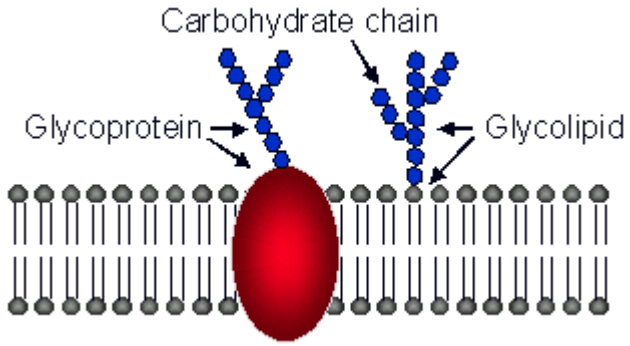
وظائف البروتين:

- تدخل في تركيب العديد من المواد البيولوجية المتخصصة مثل:
  ← الأجسام المضادة و الإنزيمات و بعض الهرمونات.
- تساعد في نقل السيالات العصبية.
- التحكم في التعبير الجيني.
- المكون الأساسي للأنسجة الحية.

تختلف البروتينات عن بعضها البعض في بنائها الكيميائي تبعاً لعدة عوامل:

1. عدد ونوع الأحماض الأمينية المكونة لسلاسلها البيبتيدية.
2. ترتيب وتتابع الأحماض الأمينية.
3. ارتباط البروتين مع جزيئات أخرى غير بروتينية .





الأشكال البنائية للبروتين :

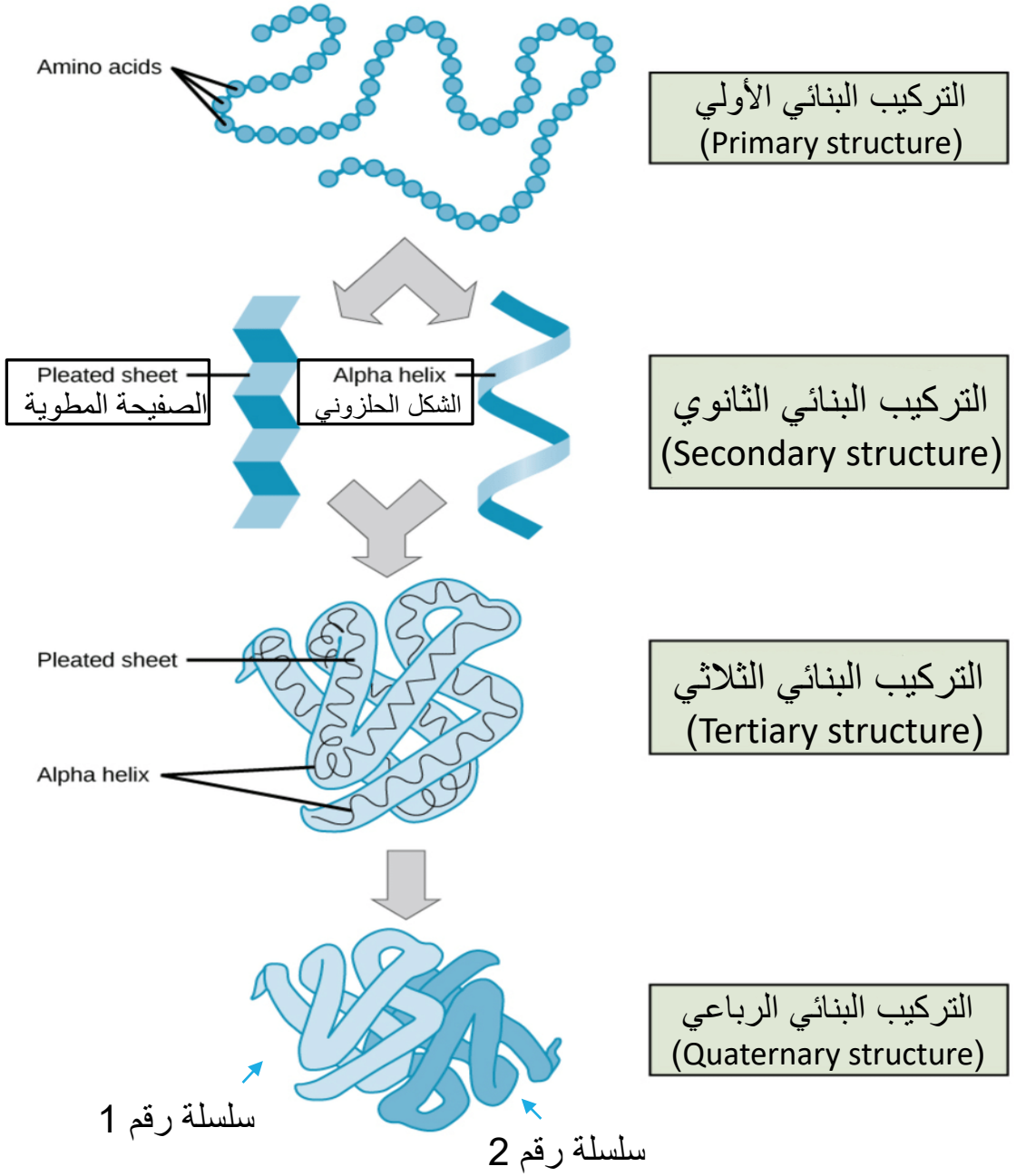
تأخذ السلاسل الببتيدية المكونة للبروتين أشكالاً فراغية ناتجة عن التفاف تلك السلاسل معطيةً أربعة تراكيب بنائية:

1- التركيب البنائي الأولي (Primary structure):
يعبر **عن تسلسل وتتابع الأحماض الأمينية** المرتبطة مع بعضها البعض بروابط ببتيدية.

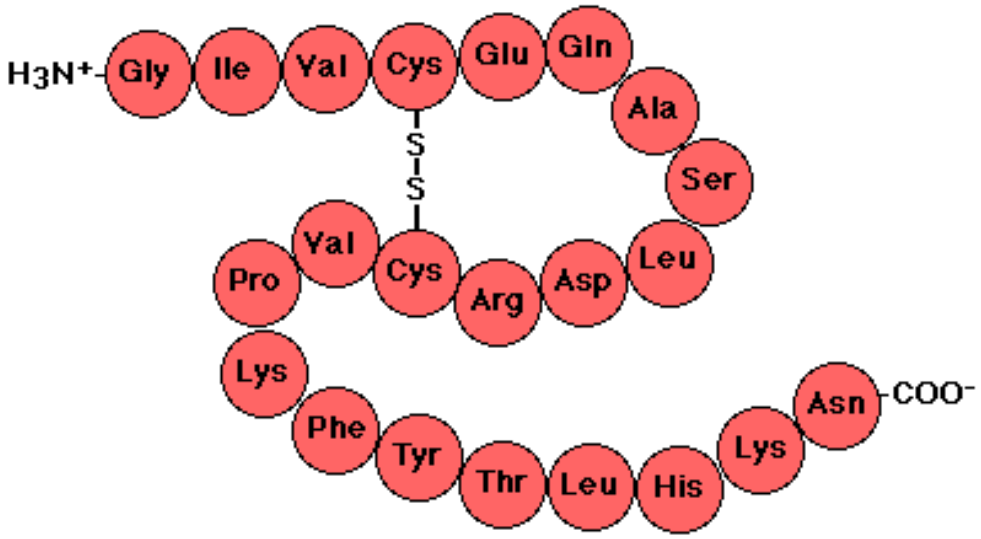
2- التركيب البنائي الثانوي (Secondary structure):
ينتج عن تكوين روابط هيدروجينية بين المجموعات الطرفية (R-group) للأحماض الأمينية **القريبة** مع بعضها البعض مما يتسبب في التفاف والتواء السلسلة الببتيدية مكونة إما شكل الصفيحة المطوية (β-sheet) أو الشكل الحلزوني (α-helix).

3- التركيب البنائي الثلاثي (Tertiary structure):
ينتج عن تكوين روابط هيدروجينية و أيونية بين المجموعات الطرفية (R-group) للأحماض الأمينية **البعيدة** عن بعضها مكونة الشكل الثلاثي الأبعاد.

4- التركيب البنائي الرباعي (Quaternary structure):
وفيه ترتبط **وحدات مختلفة أو متشابهة** من السلاسل الببتيدية (subunits) مع بعضها البعض لتكون الشكل الرباعي الأبعاد للبروتين.
مثال: جزئ الهيموجلوبين المتكون من أربعة وحدات مرتبطة معاً.


Amino acids
التركيب البنائي الأولي
(Primary structure)
Pleated sheet
الصفيحة المطوية
Alpha helix
الشكل الحلزوني
التركيب البنائي الثانوي
(Secondary structure)
Pleated sheet
Alpha helix
التركيب البنائي الثلاثي
(Tertiary structure)
التركيب البنائي الرباعي
(Quaternary structure)
سلسلة رقم 1
سلسلة رقم 2

تبتدأ السلسلة الببتيدية المكونة للبروتينات بالطرف الأميني الحر البروتينات وتنتهي بالطرف الكربوكسيلي.

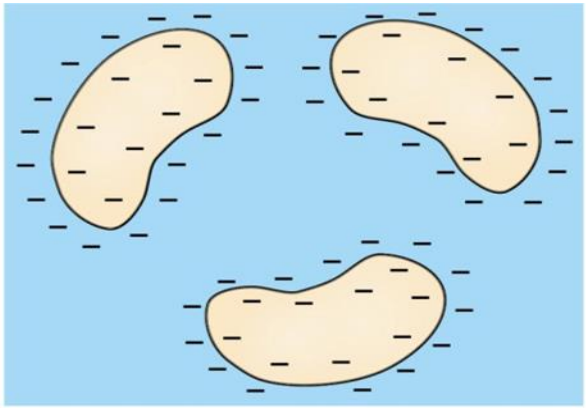


خواص البروتينات (protein properties) :

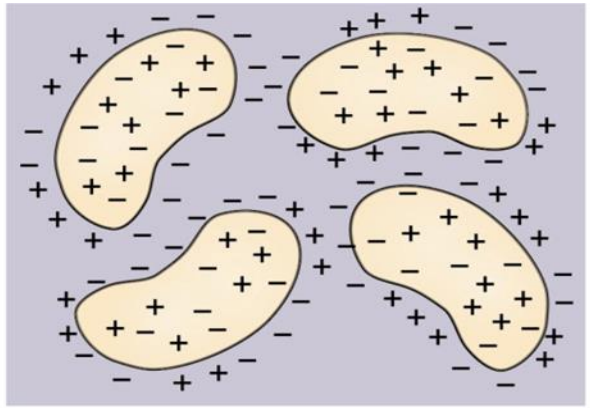
- تشبه البروتينات في خصائصها الفيزيائية والكيميائية تلك الخصائص التي تتميز بها الأحماض الأمينية المكونة لها.
- فللبروتينات **خاصية أمفوتيرية** في تفاعلها مع الأحماض فتحمل شحنة موجبة بينما مع القواعد نجد أنها تكتسب شحنة سالبة، ولذا فإن **حركتها في المجال الكهربي تعتمد على قيمة pH .**

نقطة التعادل الكهربي للبروتين (pI) (isoelectric point) :

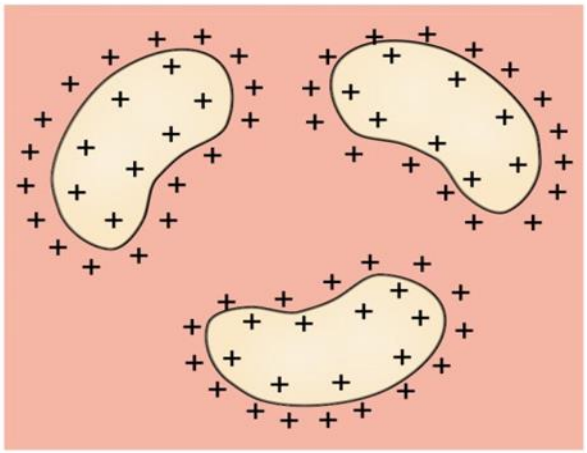
- هي الرقم الهيدروجيني pH التي يكون عندها محصلة الشحنات على الجزئ تساوي **صفر** نتيجة لتساوي الشحنات الموجبة والسالبة على جزئ البروتين.
- وعند هذه النقطة يصبح البروتين **أقل ذوبانية فيسهل ترسيبه.**
- تختلف نقطة التعادل الكهربي من بروتين إلى آخر حسب الأحماض الأمينية المكونة له.



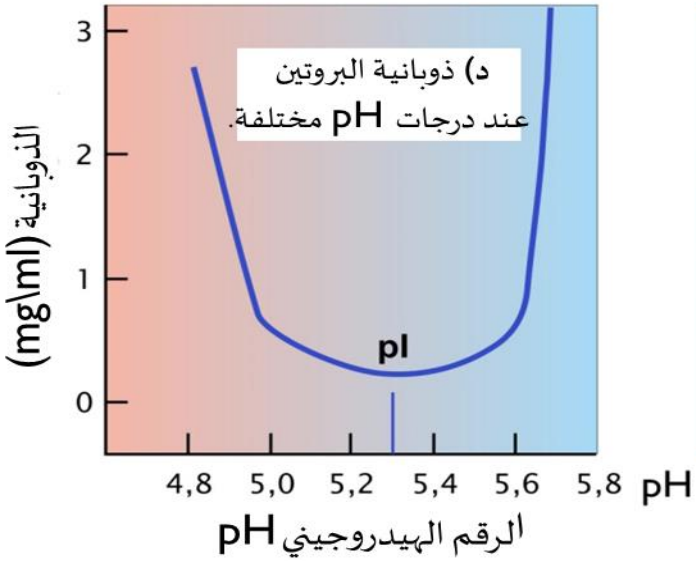
أ) في الوسط القاعدي يحمل البروتين شحنة سالبة.



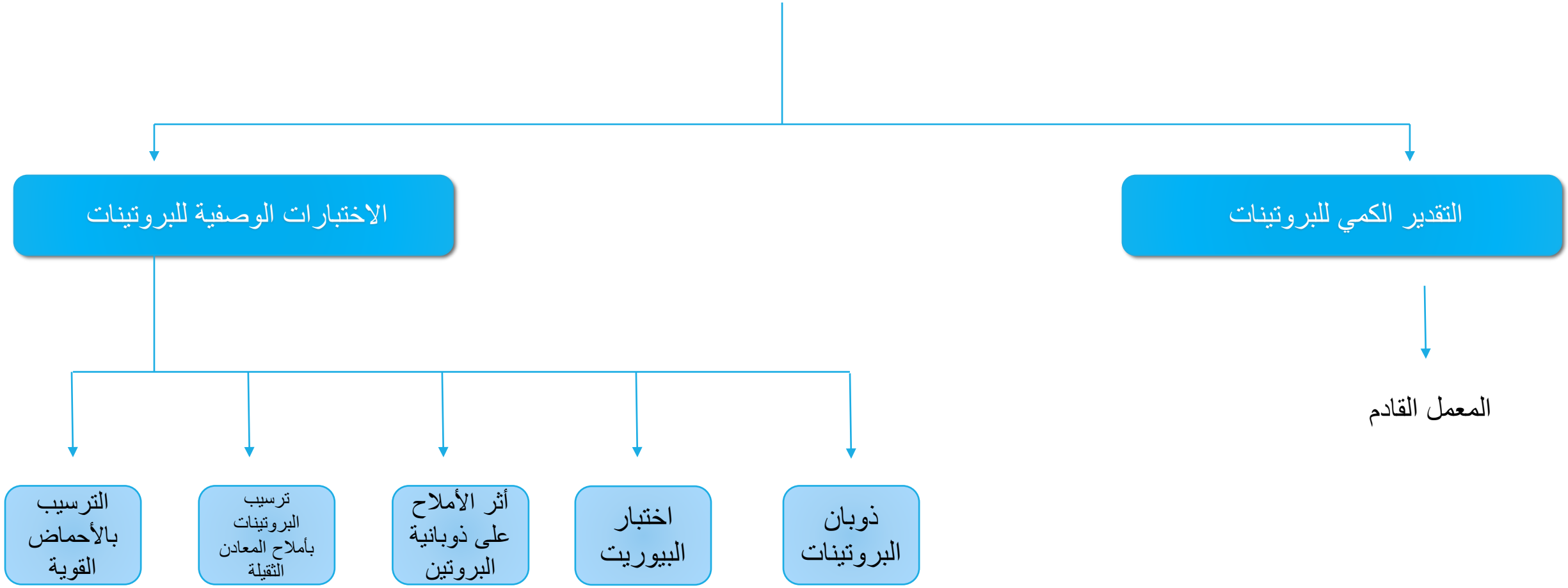
ج) عند نقطة التعادل الكهربي pI محصلة الشحنات تساوي **صفر**.



ب) في الوسط الحمضي يحمل البروتين شحنة موجبة.

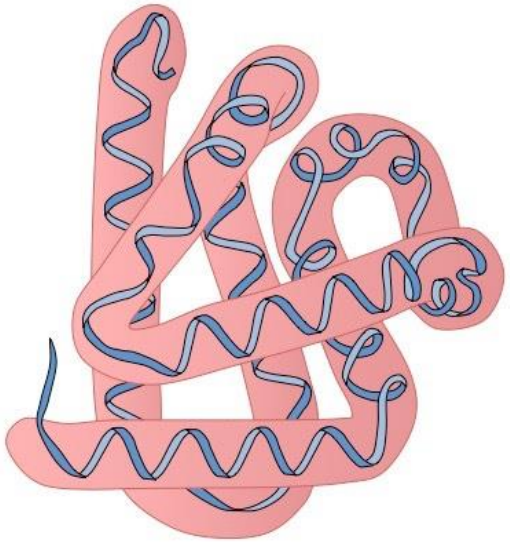


الجزء العملي


التقدير الكمي للبروتينات
المعمل القادم
الاختبارات الوصفية للبروتينات
ذوبان البروتينات
اختبار البيوريت
أثر الأملاح على ذوبانية البروتين
ترسيب البروتينات بأملاح المعادن الثقيلة
الترسيب بالأحماض القوية

أولاً: ذوبان البروتينات -اختبار الذوبانية- (solubility of proteins) :

- البروتينات الليفية (fibrous proteins) مثل الكيراتينات والكولاجين **غير قابلة** للذوبان في الماء.
- البروتينات الكروية (globular proteins) تمثل القسم الأعظم و **قابلة للذوبان** في المذيبات القطبية و الأحماض والقلويات بدرجات مختلفة.

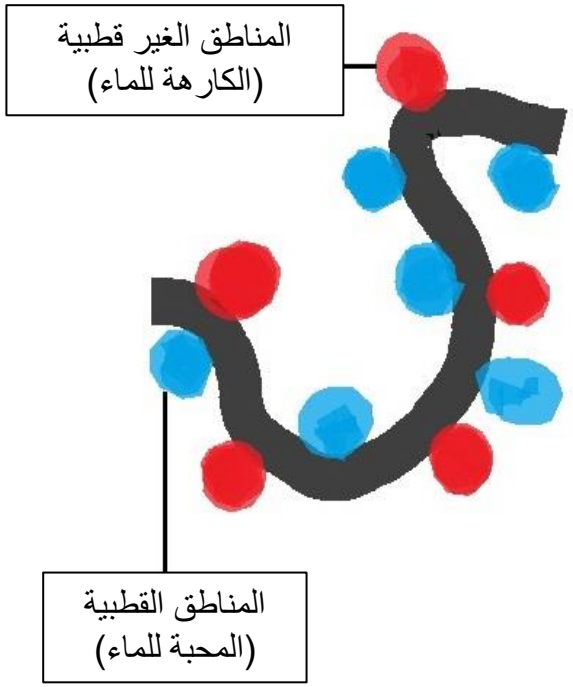


البروتينات الكروية

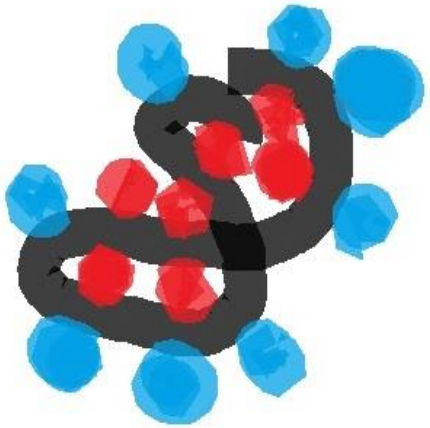
البروتينات الليفية

المبدأ العلمي للتجربة :

تكون البروتينات مع الماء محاليل غروية نظراً لكبر حجم جزيئات البروتين، بينما في الوسط الحمضي فغالباً ما تكتسب الجزيئات الشحنة الموجبة فتتنافر، أما في الوسط القاعدي فتكتسب جزيئات البروتين الشحنة السالبة فتصبح أيضاً قابلة للذوبان.

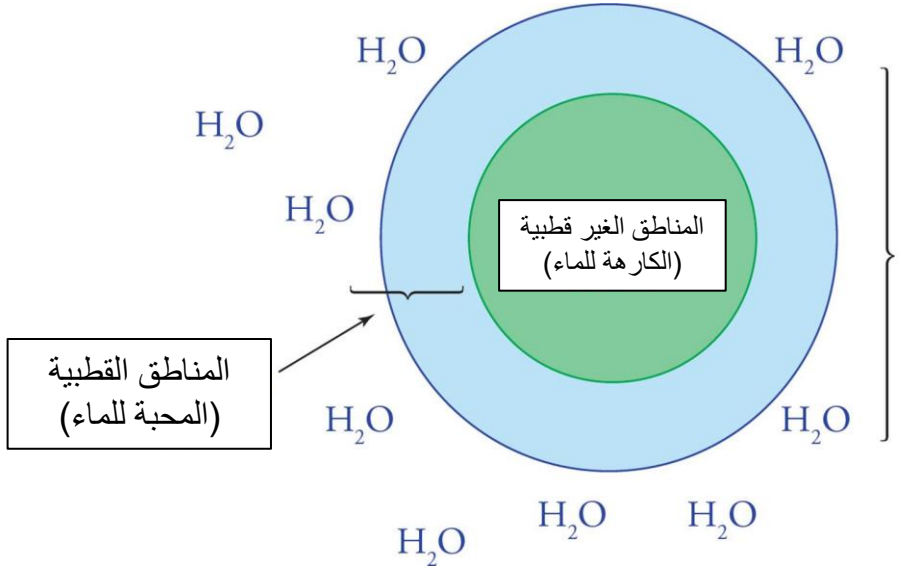


البروتين الليفي



البروتين الكروي

ذوبانية البروتينات الكروية في الماء



الهدف: اختبار السلوك الأمفوتيري و الخاصية القطبية لجزيئات البروتين.

طريقة العمل:

1-اختبري ذوبان كل من البروتينات (البيومين، كازين) في كل من الماء و هيدروكسيد الصوديوم (0.1%NaOH) ، عن طريق اضافة 1مل من البروتين + 2مل من المذيب .
2- سجلي قابلية ذوبان كل من البروتينات في جدول النتائج .

النتائج:

البروتين	نوع البروتين	قابلية الذوبان في الماء	قابلية الذوبان في هيدروكسيد الصوديوم
الألبومين (albumin)	بسيط		
كازين (casein)	مرتبط		

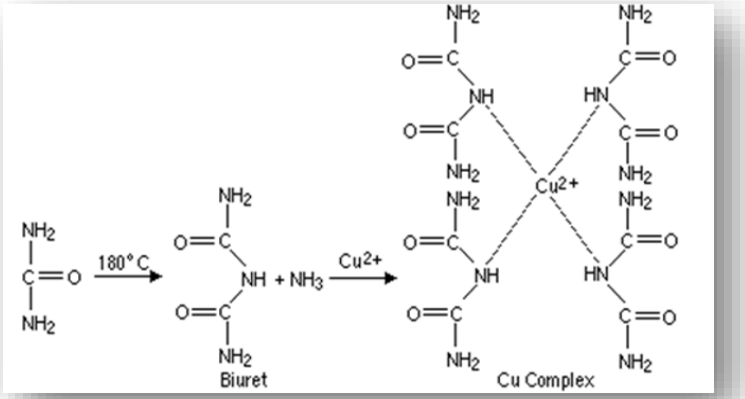
المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلت عليها مع ذكر السبب لكل مذيب.

ثانياً: اختبار البيوريت (Biuret reaction) :

الهدف: التعرف على البروتينات وتمييزها عن بقية المواد كالكربوهيدرات والدهون.

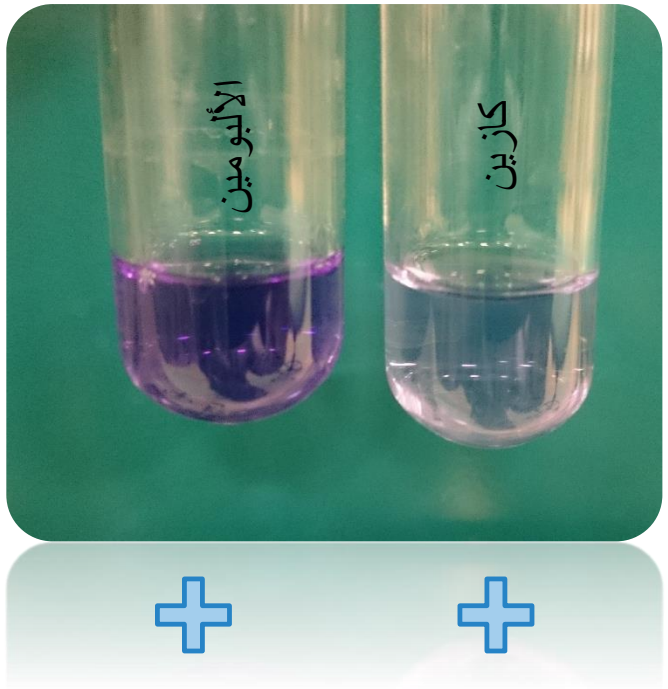
النظرية العلمية للاختبار:



يتفاعل البروتين مع **محلول كبريتات النحاس في وسط قاعدي** ، فيتفاعل أيون النحاسيك مع مجموعتي (-NH, -CO) في الرابطة الببتيدية مكوناً متراكباً بنفسجي اللون.

ملاحظات:

- يعطي الاختبار نتيجة إيجابية فقط عند وجود رابطتين ببتيدين فأكثر في جزئ البروتين.
- تم تسمية هذا الاختبار بإسم بيوريت ، لأن البيوريت هو المركب غير البروتيني الوحيد الذي يعطي نتيجة إيجابية مع هذا الاختبار.
- اللون الأزرق ليست نتيجة إيجابية بل هو لون الكاشف.



طريقة العمل:

1- ضعي في كل أنبوبة 2 مل من محلول البروتين.
2- أضيفي 1مل من كاشف

النتائج:

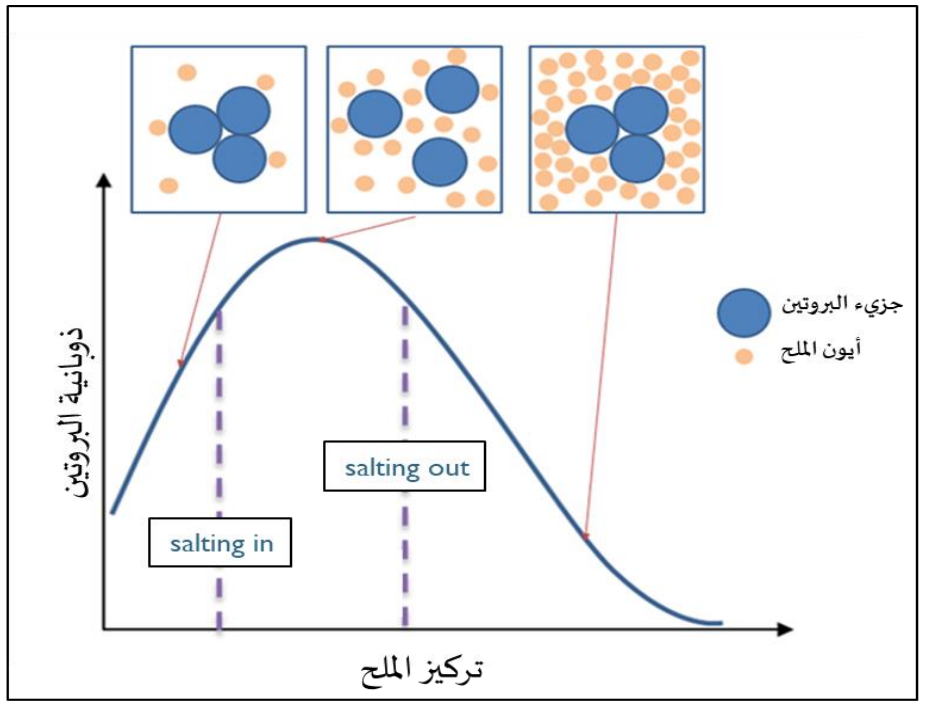
البروتين	الملاحظة	الاستنتاج
الألبومين (albumin)		
كازين (casein)		

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلت عليها مع ذكر السبب.

ثالثاً: أثر الأملاح على ذوبانية البروتين (precipitation of proteins by salts) :

يتم ترسيب البروتينات باستخدام المحاليل المركزة للأملاح و يتميز كل بروتين بتركيز معين للملح يترسب عنده فيتم فصله عن البروتينات الأخرى في المحلول و تسمى هذه العملية بـ Salting out .



النظرية العلمية للاختبار:

1- التراكيز المنخفضة من الملح (Salting in): تساعد على استقرار جزيئات البروتين و إذابتها نتيجة للتجاذب بين أيونات الملح و المجموعات الفعالة في البروتين.

2- التراكيز العالية (Salting out): تنافس أيونات الملح جزيئات البروتين على الارتباط بجزيئات الماء فيقل استقرار البروتين مما يؤدي الى ترسيبه. وبالرغم من ترسيب البروتينات إلا أنها تحافظ على خصائصها ونشاطها بعد إذابتها وبالتالي فإن هذه الطريقة تستخدم لتنقية البروتينات من محاليلها.

الهدف: بيان أن التراكيز القليلة من الملح قد تساعد على ذوبان البروتينات بينما التراكيز العالية تسبب ترسيب البروتين.

طريقة العمل:

1- أضيفي 2 مل من البروتن + كبريتات الامونيوم المشبعة على عينة البروتين لاحظي التغير.
2- ثم أضيفي 2.5 مل على نفس الانبوبة كلوريد الصوديوم NaCl 1%
3- دوني النتائج في الجدول.

النتائج:

البروتين	إضافة محلول كبريتات الأمونيوم المشبعة	إضافة كلوريد الصوديوم NaCl 1%
الألبومين (albumin)		
كازين (casein)		

اختفاء الراسب بعد إضافة NaCl (Salting in)

تكون راسب أبيض بعد إضافة كبريتات الأمونيا المشبعة (Salting out)

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلت عليها مع ذكر السبب في تغير ذوبانية البروتين في تراكيز الأملاح المختلفة والتعليق على نشاط البروتين.

رابعاً: ترسيب البروتينات بأملاح المعادن الثقيلة (Precipitation of proteins by salts of heavy metals) :

الهدف: التعرف على تأثير أملاح الفضة على طبيعة تركيب البروتينات و نشاطها الحيوي وذوبانيته.

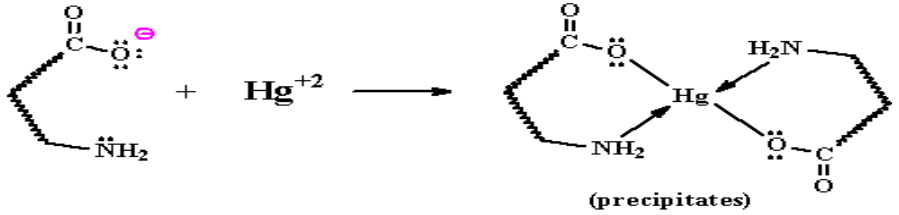
التطبيقات:

-تستخدم هذه الطريقة لفصل البروتينات و تفتيتها دون النظر إلى نشاطها الحيوي .

-إيضاح خطورة التسمم بالرصاص وإيضاح إمكانية استخدام البروتينات (الألبيومين) كعلاج في حالات التسمم بالزئبق والرصاص.

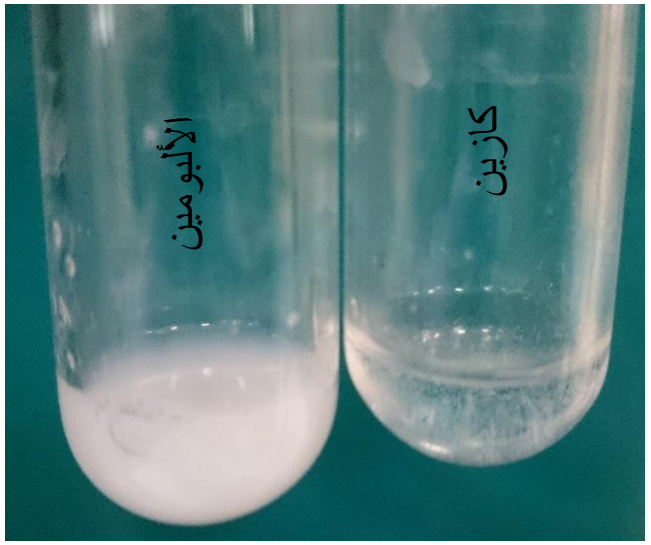
النظرية العلمية للتجربة:

تقوم أملاح المعادن الثقيلة (والتي لها اوزان جزيئية ثقيلة) بمعادلة شحنة البروتين وذلك عن طريق ارتباط أيون المعدن (**موجب الشحنة**) بالشحات **السالبة** على البروتين مما يؤدي إلى ترسيب البروتين وتخثره نتيجةً لفقدان الروابط الأيونية.



طريقة العمل:

1- ضعي في كل أنبوب 1مل من محلول البروتين.
2- أضيفي 0.5 مل من نترات الفضة.



تخثر البروتين
وترسيبه

النتائج:

الأنبوبة	الملاحظة	الاستنتاج
الألبومين+ $AgNO_3$		
كازين+$AgNO_3$		

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلت عليها مع ذكر السبب في تخثر وترسب البروتين والتعليق على نشاطه.

خامساً: الترسيب بالأحماض القوية (Precipitation of proteins by strong acids) :

الهدف:

التعرف على تأثير الأحماض القوية على طبيعة تركيب البروتينات و نشاطها الحيوي وذوبانيته.

النظرية العلمية للاختبار:

تواجد البروتينات في وسط حمضي يكسبها شحنة **موجبة** فتجذب جزيئات البروتين إلى أيونات الحمض **السالبة** (NO_3) وتعمل على ترسبيها وتخثرها نتيجةً لفقدان الروابط الأيونية.

بعض التطبيقات:

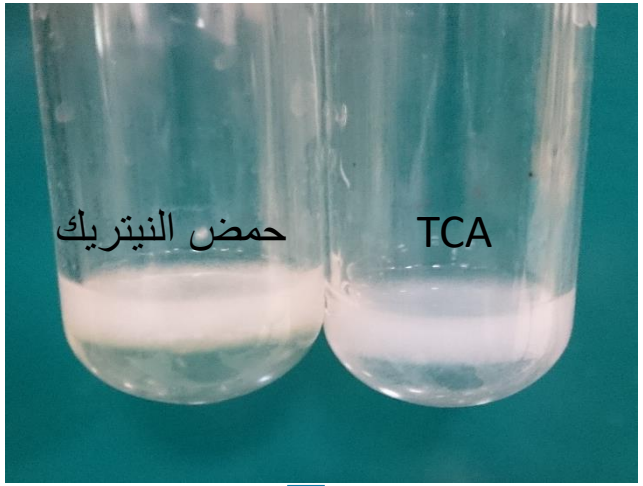
- الكشف عن البروتين في البول بواسطة حمض النيتريك المركز.
- فصل البروتين في محلول ما.
- لإيقاف النشاط الإنزيمي.

طريقة العمل:

1- **في الأنبوبة الأولى** ضعي 2 مل من حمض النيتريك المركز في أنبوب اختبار مع المحافظة على وضع الأنبوبة بشكل مائل.
2- أضيفي محلول الألبيومين قطرة قطرة على جدار الأنبوبة ولاحظ تكون الراسب.
3- **في الأنبوبة الثانية** أضيفي 2 مل من ثلاثي كلوريد حمض الخليك مع المحافظة على وضع الأنبوبة بشكل مائل.
4- أضيفي محلول الألبيومين قطرة قطرة على جدار الأنبوبة ولاحظي تكون الراسب.

النتائج:

الأنبوبة	النتيجة	الاستنتاج
الألبومين+حمض النيتريك		
الألبومين+ ثلاثي كلوريد حمض الخليك TCA		



تخثر البروتين وترسيبه

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلت عليها مع ذكر السبب في تخثر وترسب البروتين والتعليق على نشاطه.