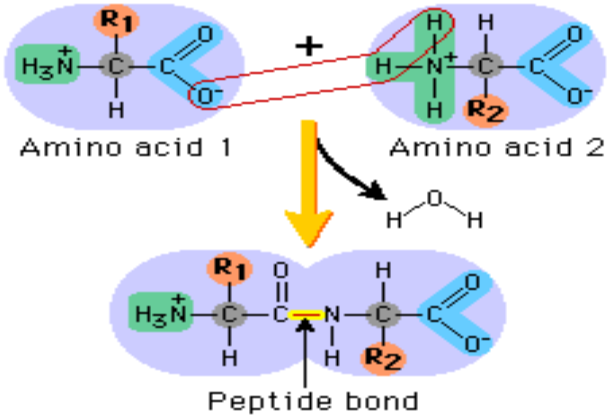
(4)
البروتينات -1-
proteins

ما هي البروتينات (proteins)؟



التركيب الكيميائي للبروتين:

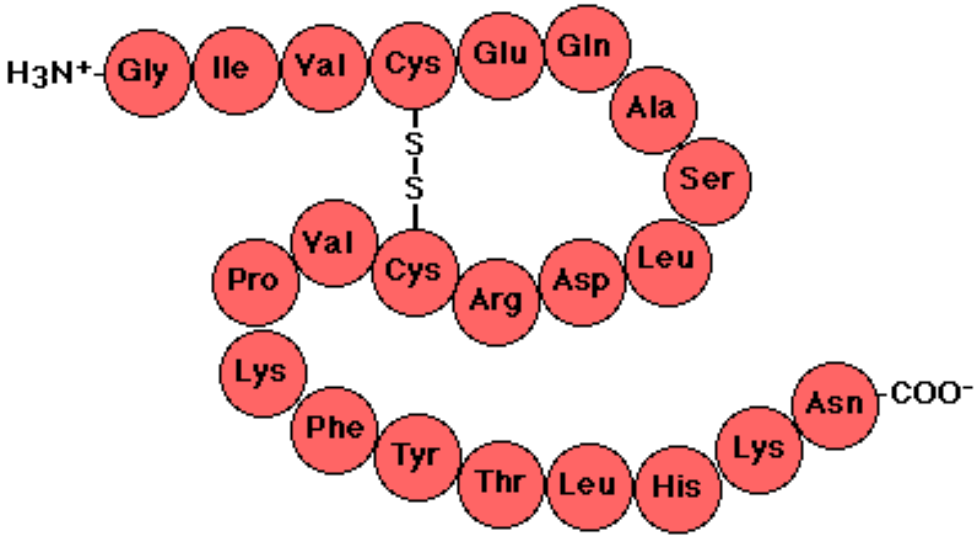
- البروتينات مركبات عضوية ذات أوزان جزيئية كبيرة.

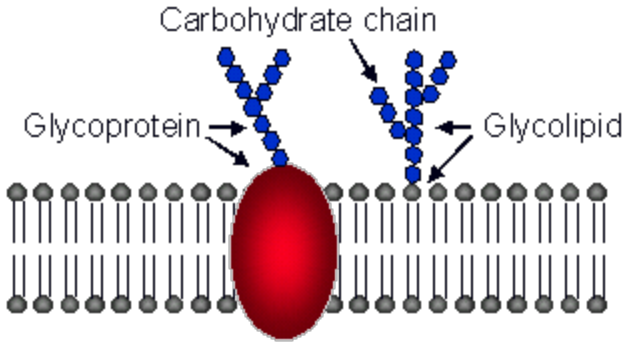
- وهي عبارة عن سلسلة من الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها بروابط ببيتيدية و فيها ترتبط مجموعة الكربوكسيل في حمض أميني مع مجموعة الأمين في حمض أميني آخر مع إزالة جزئ ماء.

- تلعب البروتينات دوراً هاماً في جسم الكائن الحي حيث تدخل في تركيب العديد من المواد البيولوجية المتخصصة مثل الأجسام المضادة و الإنزيمات و بعض الهرمونات، كما تساعد في نقل السيالات العصبية والتحكم في التعبير الجيني و هي 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 .



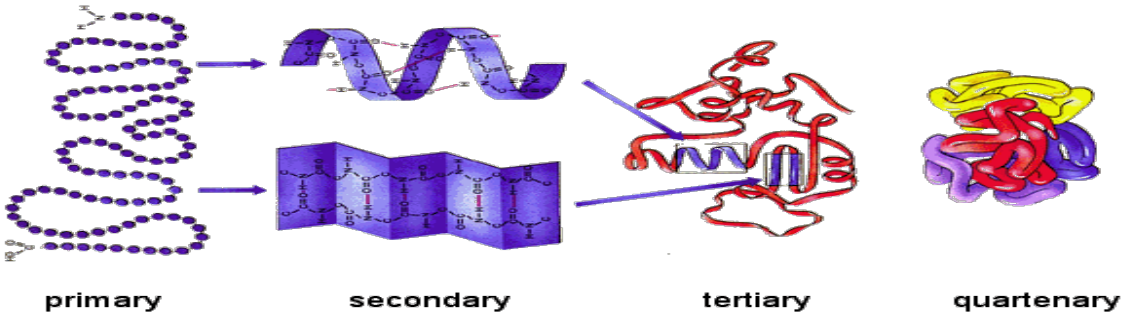


الأشكال البنائية للبروتين :

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

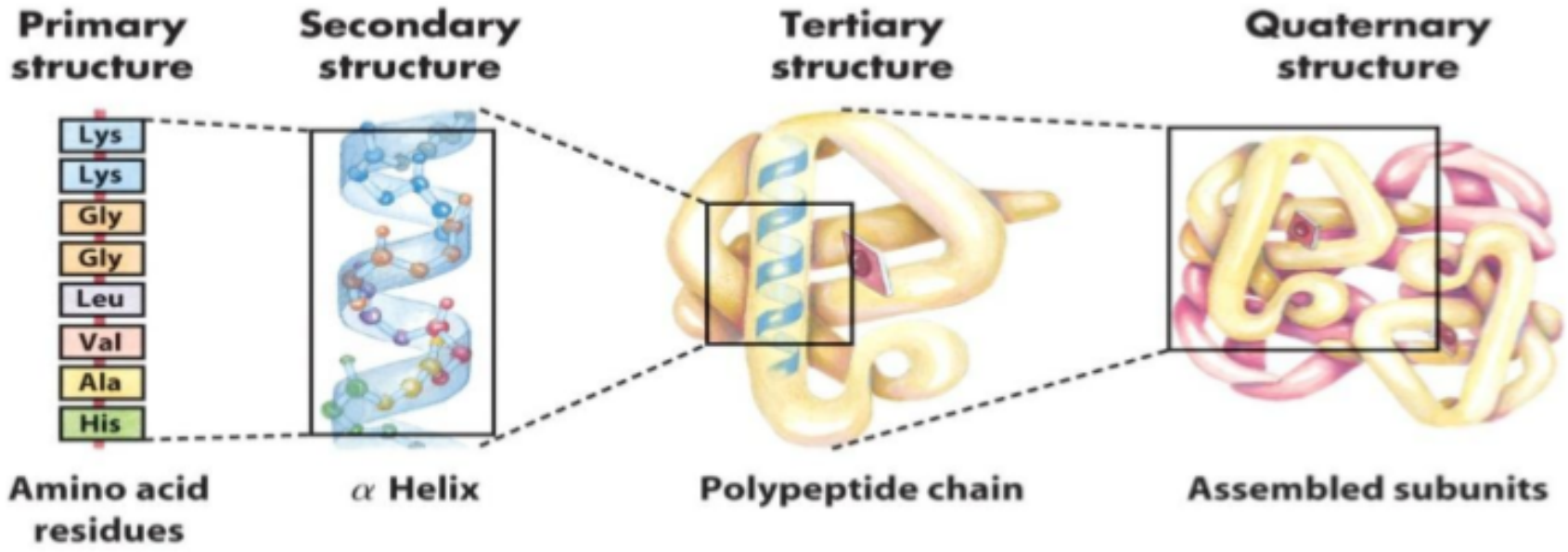
1- التركيب البنائي الأولي (Primary structure): يعبر عن تسلسل وتتابع الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها البعض بروابط ببتيدية.

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

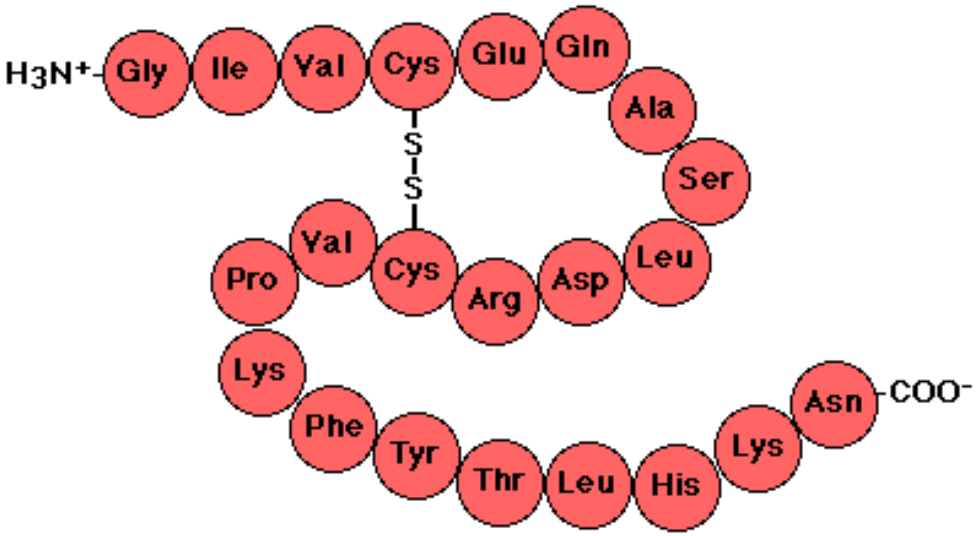


3- التركيب البنائي الثلاثي (Tertiary structure): ينتج عن تكوين روابط هيدروجينية و أيونية بين المجموعات الطرفية (R-group) للأحماض الأمينية **البعيدة** عن بعضها مكونة الشكل الثلاثي الأبعاد.

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.



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



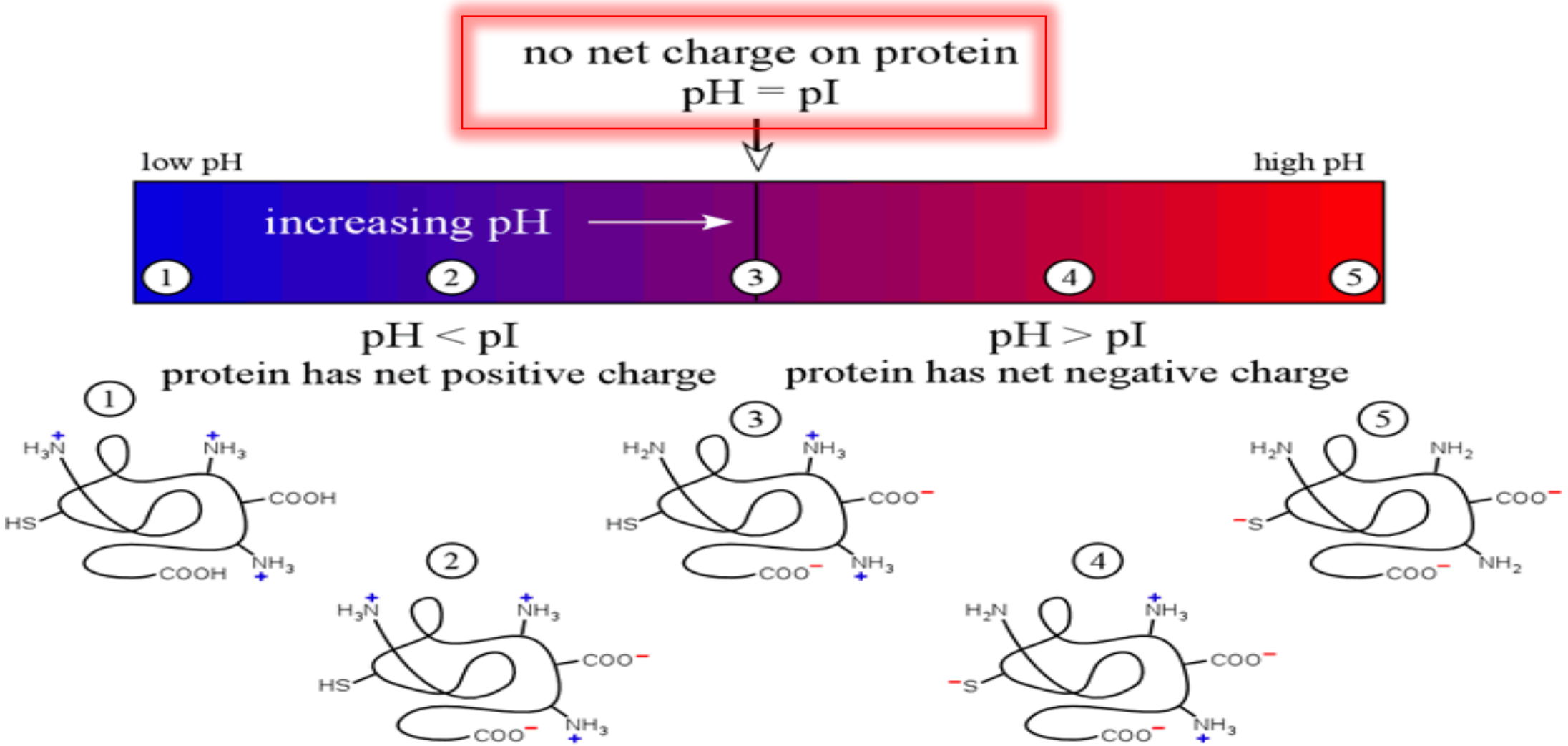
خواص البروتينات :

- والبروتينات في هذا التركيب تصبح قادرة على أداء وظائف بيولوجية. وتشبه البروتينات في خصائصها الفيزيائية والكيميائية تلك الخصائص التي تتميز بها الأحماض الأمينية المكونة لها.

- وبالتي 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 (isoelectric point (pI)) :

- هي الأس 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، وتختلف نقطة التعادل الكهربي من بروتين إلى آخر حسب الأحماض الأمينية المكونة له.


no net charge on protein
pH = pI
low pH
high pH
increasing pH
1
2
3
4
5
pH < pI
protein has net positive charge
pH > pI
protein has net negative charge

الجزء العملي

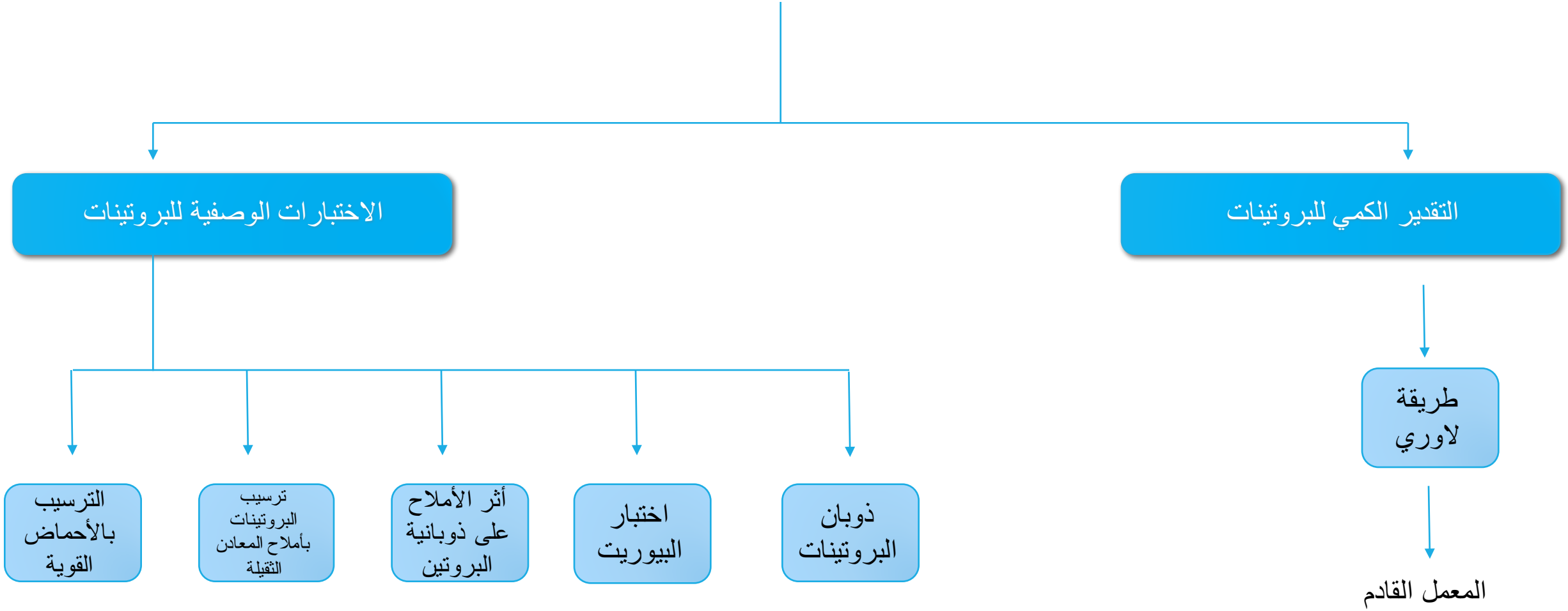
1- اختبار ذوبان البروتين.

2- اختبار بيوريت.

3- أثر الأملاح على ذوبانية البروتين.

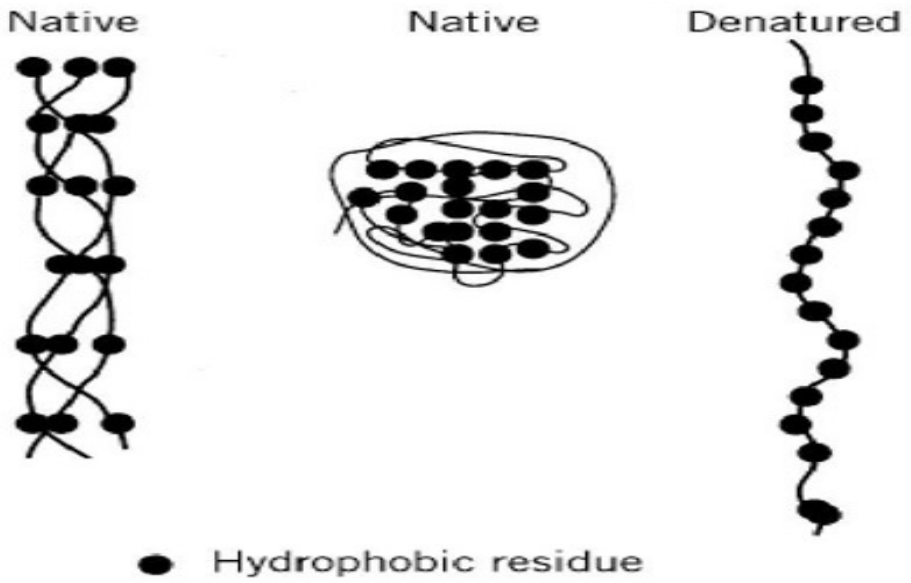
4- ترسيب البروتينات بأملاح المعادن الثقيلة.

5- الترسيب بالأحماض القوية.


التقدير الكمي للبروتينات
طريقة لاوري
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 بينما البروتينات الكروية (globular proteins) تمثل القسم الأعظم و قابلة للذوبان في المذيبات القطبية و الأحماض و القلويات بدرجات مختلفة.



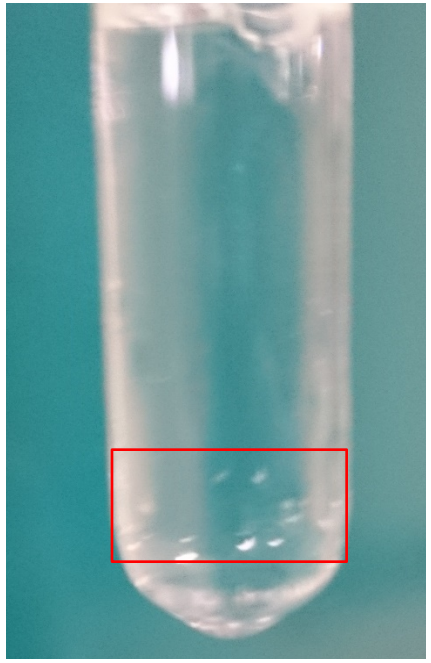
المبدأ العلمي للتجربة :

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.

الهدف: إختبار السلوك الأمفوتيري و الخاصية القطبية لجزيئات البروتين.

طريقة العمل:

1-اختبري ذوبان كل من البروتينات (البيومين، كازين) في كل من الماء، حمض الهيدروكلوريك و هيدروكسيد الصوديوم 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 حمض الهيدروكلوريك	قابلية الذوبان في هيدروكسيد الصوديوم
الألبومين (albumin)	بسيط			
كازين (casein)	مرتبط			

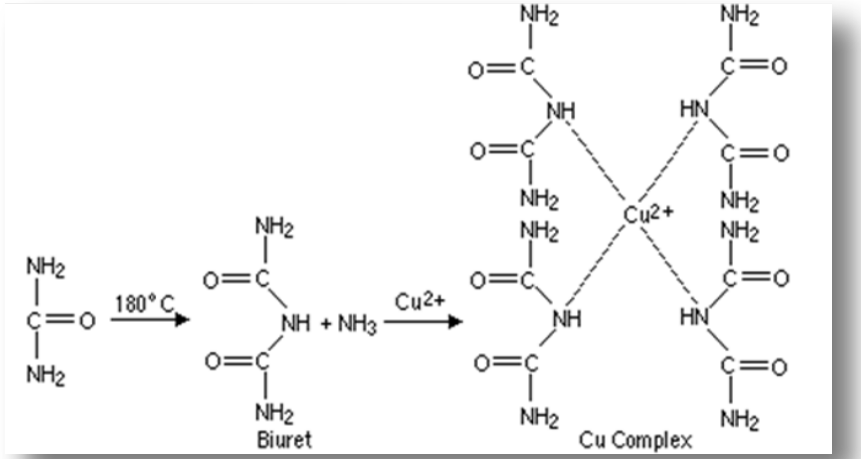
المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

ثانياً: اختبار البيوريت (biuret reaction) :

الهدف: اختبار عام على البروتينات الذائبة و الصلبة. يهدف هذا الاختبار التعرف على البروتينات وتمييزها عن بقية المواد كالكربوهيدرات و الليبيدات.

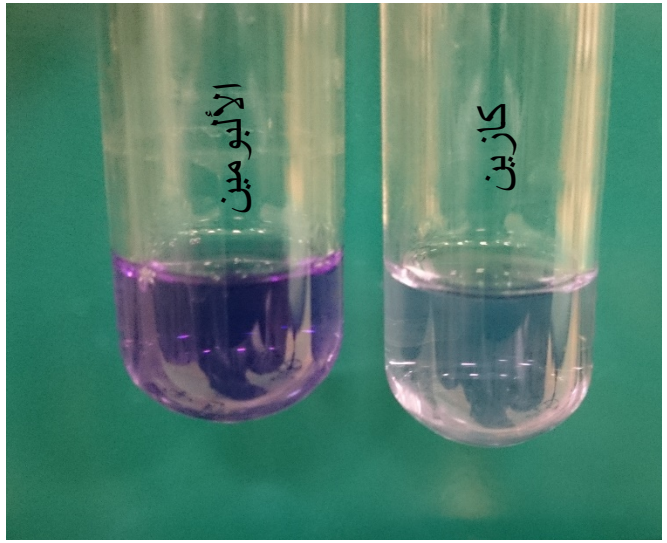
النظرية العلمية للاختبار:



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 ايجابية 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.



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 حصلتي عليها مع ذكر السبب.

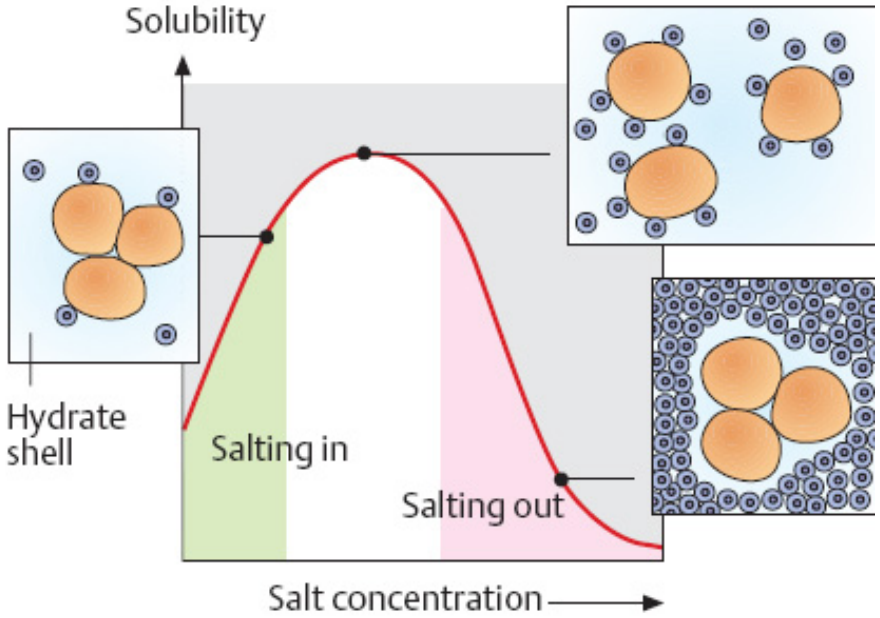
ثالثاً: أثر الأملاح على ذوبانية البروتين(precipitation of proteins by salts) :

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: تساعد على إستقرار جزيئات البروتين و إذابته نتيجة للتجاذب بين أيونات الملح و المجموعات الفعالة في البروتين.

2- التراكيز العالية: 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 المشبعه 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)		

تكون راسب أبيض بعد إضافة كبريتات الأمونيا المشبعة

اختفاء الراسب بعد إضافة NaCl (زادت الذوبانية)

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

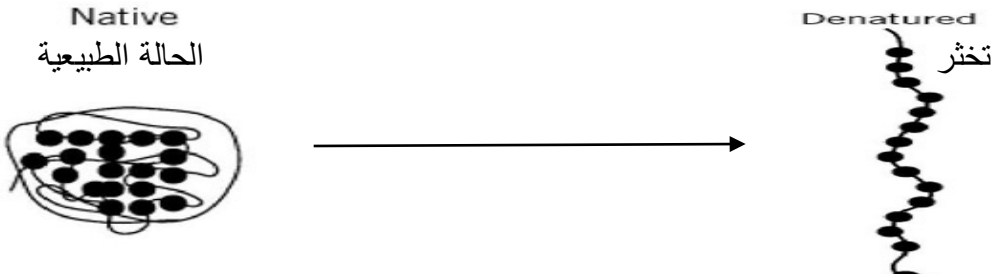
رابعاً: ترسيب البروتينات بأملاح المعادن الثقيلة (precipitation of proteins by salts of heavy metals) :

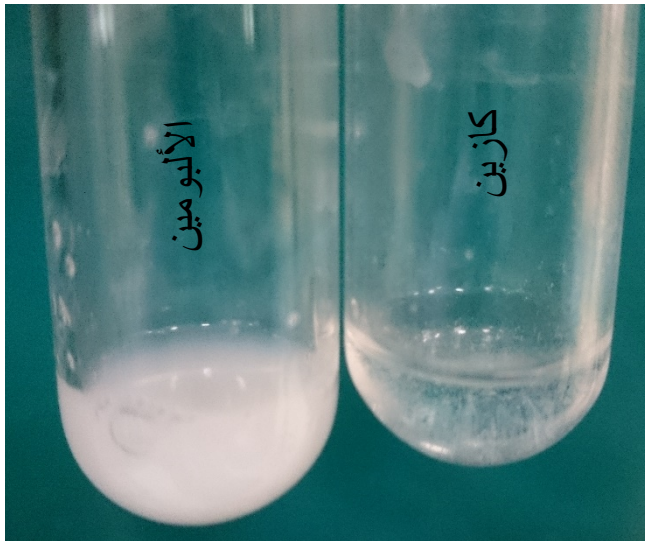
تستخدم هذه الطريقة لفصل البروتينات و تفتيتها دون النظر الى نشاطها الحيوي .

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

التطبيقات:
إيضاح خطورة التسمم بالرصاص وإيضاح إمكانية إستخدام البروتينات (الألبيومين) كعلاج في حالات التسمم بالزئبق و الرصاص.

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.





طريقة العمل:

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

النتائج:

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

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

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

الهدف من التجربة (تستخدم لعدة أهداف معملية):

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

النظرية العلمية للاختبار:

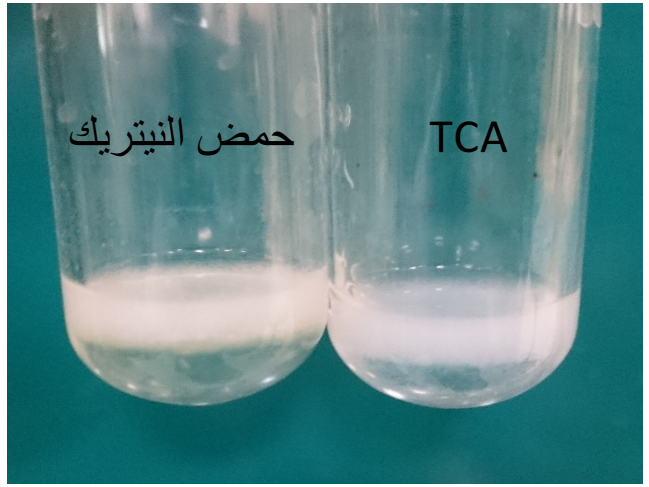
تواجد البروتينات في وسط حمضي يكسبها شحنة موجبة فتجذب جزيئات البروتين إلى أيونات الحمض السالبة (NO_3) وتعمل على ترسيبها.

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		



المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

الأسئلة :

تجربة الذوبانية:

1- لماذا تذوب البروتينات الكروية في الماء (مذيب قطبي) بينما لا تذوب البروتينات الليفية؟

تجربة بيوريت:

1- يتفاعل البروتين مع محلول كبريتات النحاس في وسط .....

تجربة أثر الأملاح على ذوبانية البروتين:

1- كيف تفسر أن البروتين لا يترسب عند تركيزات قليلة من الملح ويزداد ترسبه كلما زاد تركيز الملح؟

تجربة ترسيب البروتينات بأملاح المعادن الثقيلة:

1- هل يمكن ترسيب البروتينات بهذه الطريقة مع الحفاظ على نشاطها الحيوي؟

تجربة الترسيب بالأحماض القوية:

1- عند إضافة ثلاثي كلوريد حمض الخليك إلى محلول البروتين فإن البروتين .....

....انتهى بحمد الله