الكيمياء الحيوية العامة
(كيح ١٠١)

المعمل (٣)

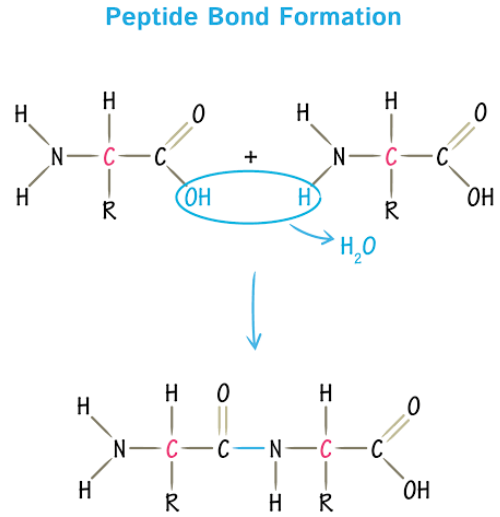
البروتينات Proteins

ـ ١ ـ

ما هي البروتينات (Proteins)؟

التركيب الكيميائي للبروتين:

- البروتينات مركبات عضوية كبيرة الحجم (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.
- تبتدأ السلسلة الببتيدية المكونة للبروتينات بالطرف الأميني الحر البروتينات وتنتهي بالطرف الكربوكسيلي.



وظائف البروتينات:

١. تدخل في تركيب العديد من المواد البيولوجية المتخصصة.

مثل: الأجسام المضادة و الإنزيمات و بعض الهرمونات.

٢. تساعد في نقل السيالات العصبية.

٣. التحكم في التعبير الجيني.

٤. المكون الأساسي للأنسجة الحية.

تصنيفات البروتين Classifications of proteins

تختلف البروتينات عن بعضها البعض تبعاً لعدة عوامل:

1. الشكل البنائي.
   - البروتينات الليفية (fibrous proteins).
   - البروتينات الكروية (globular proteins).

2. التركيب الكيميائي.
   - البروتينات البسيطة (Simple proteins).
   - البروتينات المرتبطة (conjugated proteins).

3. الوظيفة الحيوية.
   - بروتينات بنائية (Structural proteins).
   - بروتينات تنظيمية (Regulatory proteins) مثال: الهرمونات.
   - بروتينات محفزة (Catalytic proteins) مثال: الإنزيمات.

الأشكال البنائية للبروتين

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

١- التركيب البنائي الأولي (Primary structure):

يعبر عن تسلسل وتتابع الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها البعض بروابط ببتيدية.

٢- 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 (B-sheet) أو الشكل الحلزوني (alpha helix).

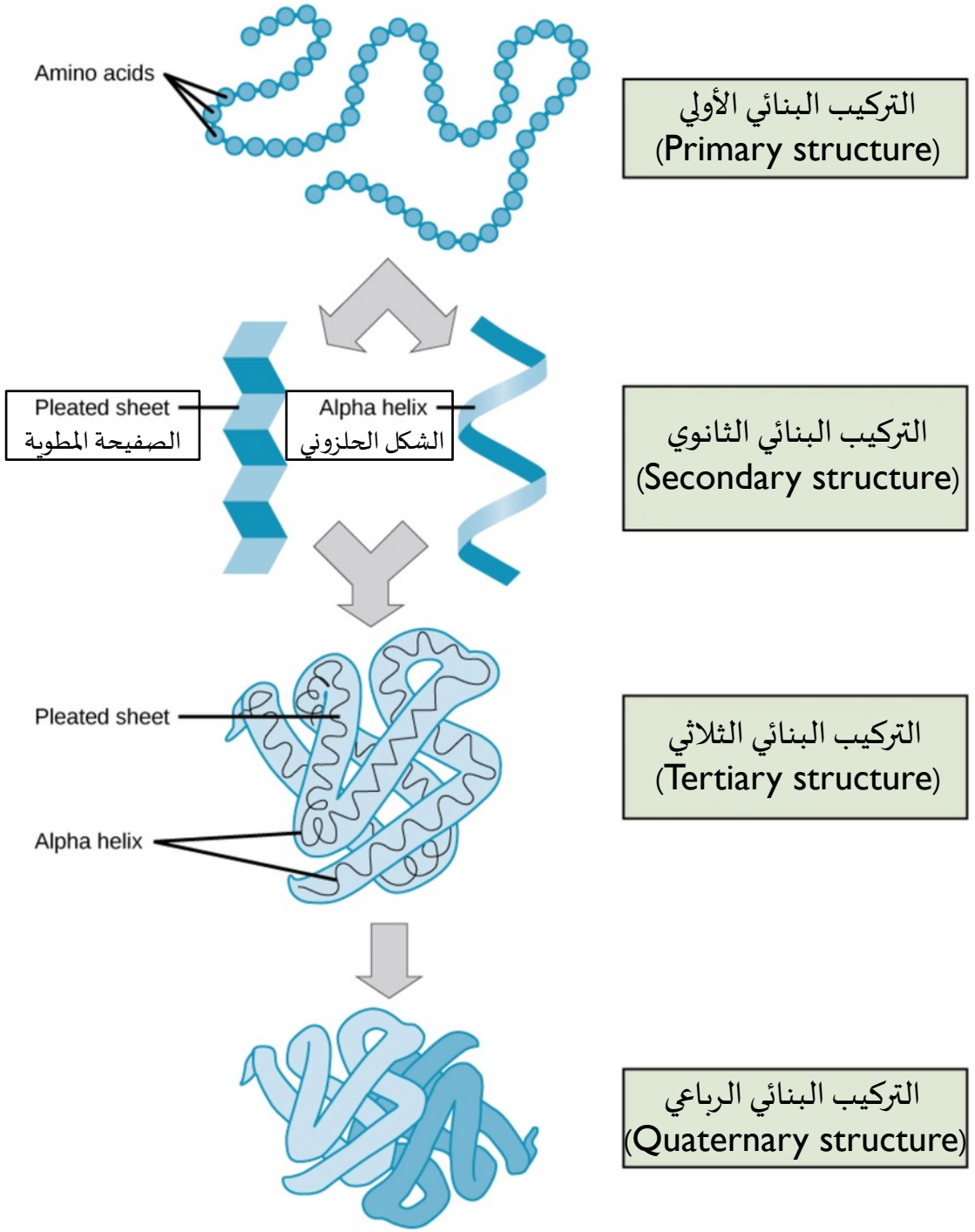
٣- التركيب البنائي الثلاثي (Tertiary structure):

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

٤- التركيب البنائي الرباعي (Quaternary structure):

ينتج عن تكوين اثنين أو أكثر من من السلاسل الببتيدية (polypeptides) مختلفة أو متشابهة وفيه ترتبط مع بعضها البعض لتكون الشكل **الرباعي** الأبعاد للبروتين.

مثال: جزئ الهيموجلوبين المتكون من أربعة وحدات مرتبطة معاً.



التركيب البنائي الأولي
(Primary structure)

التركيب البنائي الثانوي
(Secondary structure)

التركيب البنائي الثلاثي
(Tertiary structure)

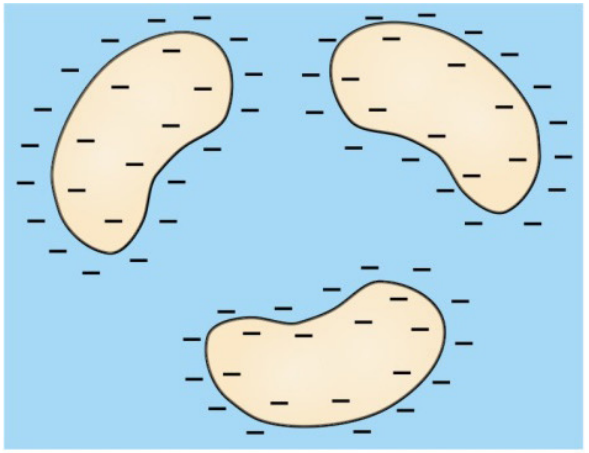
التركيب البنائي الرباعي
(Quaternary structure)

خواص البروتينات

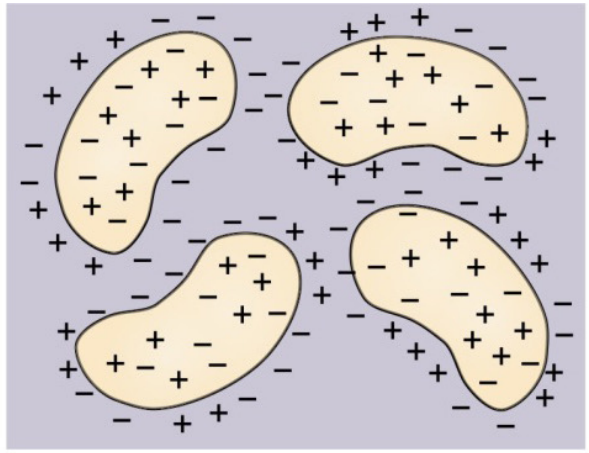
- تشبه البروتينات في خصائصها الفيزيائية والكيميائية تلك الخصائص التي تتميز بها الأحماض الأمينية المكونة لها.
- وبالتالي فللبروتينات **خاصية أمفوتيرية** في تفاعلها مع الأحماض فتحمل شحنة موجبة بينما مع القواعد نجد أنها تكتسب شحنة سالبة، ولذا فإن **حركتها في المجال الكهربي تعتمد على قيمة pH** .

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

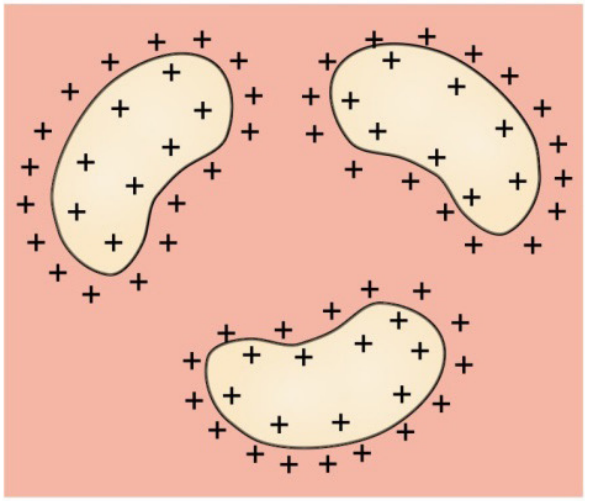
- هي الأس الهيدروجيني pH التي يكون عندها محصلة الشحنات على الجزيء تساوي صفر نتيجة لتساوي الشحنات الموجبة والسالبة على جزئ البروتين
- عند هذه النقطة يصبح البروتين أقل ذوبانية فيسهل ترسيبه *(لماذا؟)*
- تختلف نقطة التعادل الكهربي من بروتين إلى آخر حسب الأحماض الأمينية المكونة له.



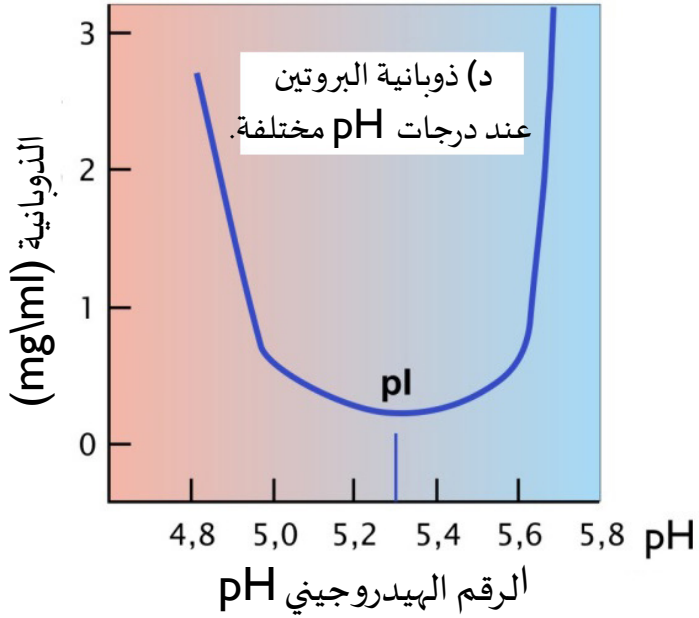
أ) في الوسط القاعدي يحمل البروتين شحنة سالبة.



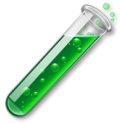
ج) عند نقطة التعادل الكهربي pI محصلة الشحنات تساوي **صفر**.

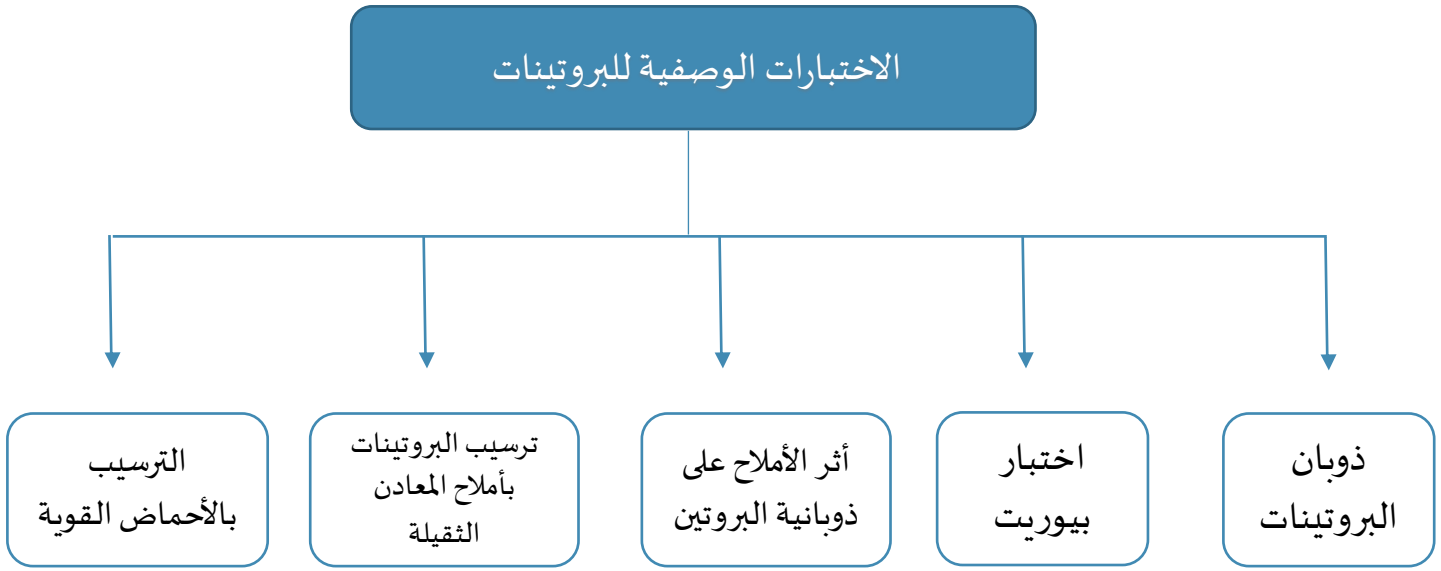


ب) في الوسط الحمضي يحمل البروتين شحنة موجبة.



الجزء العملي



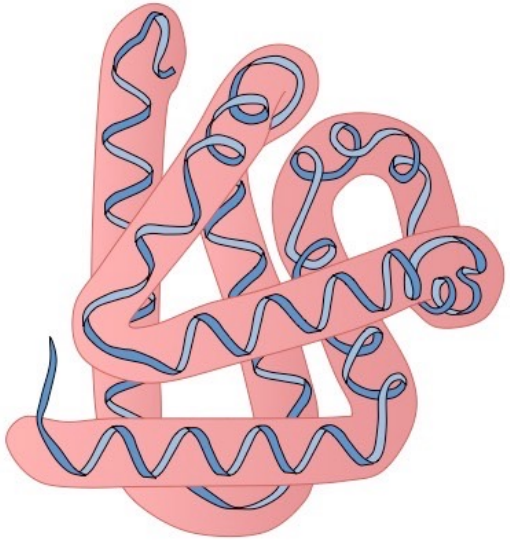

الاختبارات الوصفية للبروتينات
ذوبان البروتينات
اختبار بيوريت
أثر الأملاح على ذوبانية البروتين
ترسيب البروتينات بأملاح المعادن الثقيلة
الترسيب بالأحماض القوية

أولًا: اختبار الذوبانية (Solubility of proteins)

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

المبدأ العلمي للتجربة:

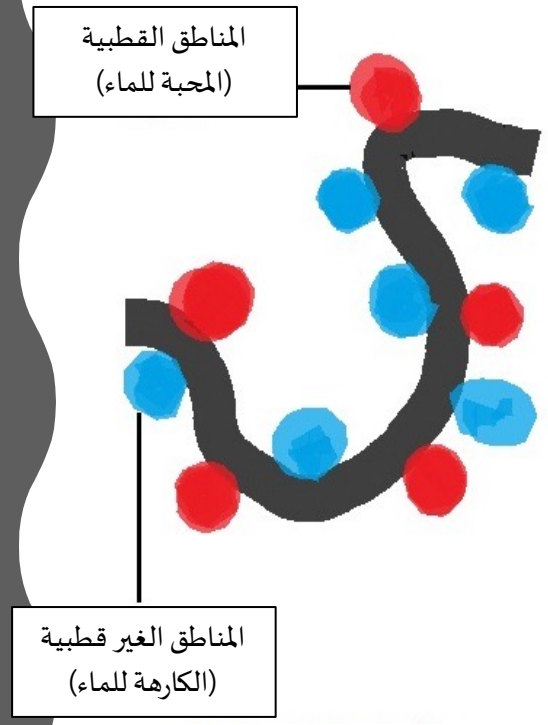
تكون البروتينات مع الماء محاليل غروية؛ نظراً لكبر حجم جزيئات البروتين، بينما في الوسط الحمضي فغالباً ما تكتسب الجزيئات الشحنة الموجبة فتتنافر، وفي الوسط القاعدي فتكتسب جزيئات البروتين الشحنة السالبة فتصبح أيضاً **قابلة للذوبان**.



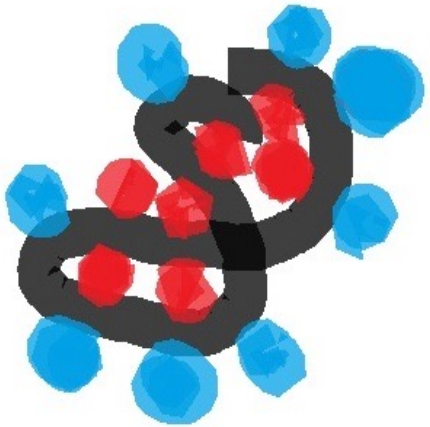
البروتينات الكروية

البروتينات الليفية

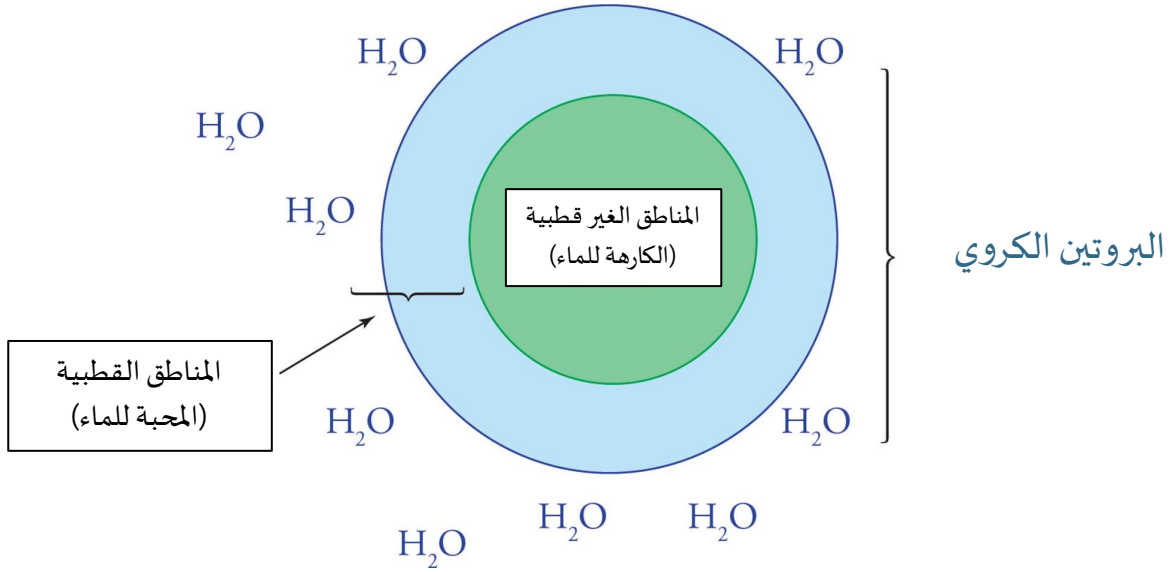
ذوبانية البروتينات الكروية في الماء



البروتين



البروتين في الوسط المائي



الهدف: اختبار 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 إضافة 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.

ثانيًا: اختبار بيوريت (Biuret test)

اختبار بيوريت هو اختبار عام للكشف عن البروتينات الذائبة و الصلبة.

الهدف:

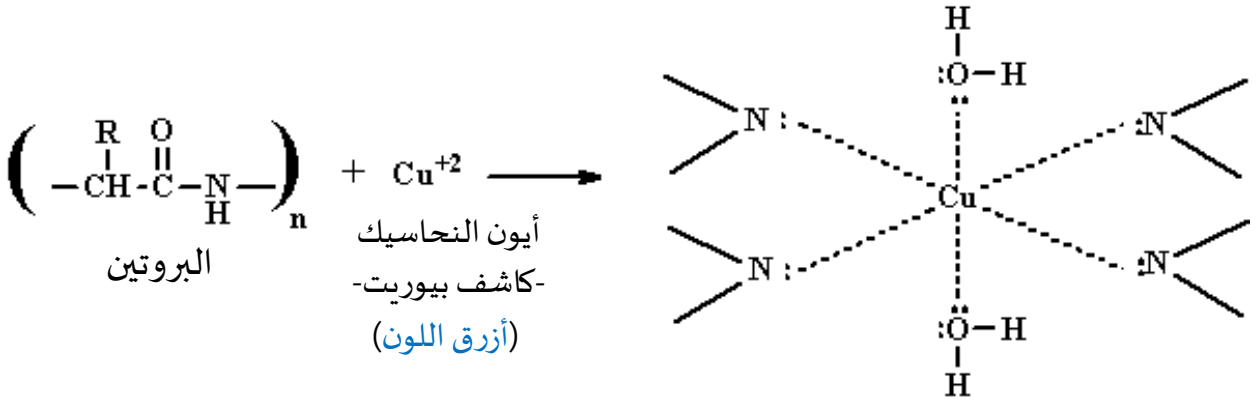
يهدف هذا الاختبار التعرف على البروتينات وتمييزها عن بقية المواد كالكربوهيدرات و الدهون.

النظرية العلمية للاختبار:

يتفاعل أيون النحاسيك مع النتروجين الموجود في الرابطة الببتيدية مكوناً معقدًا بنفسجي اللون **في وسط قاعدي.**

ملاحظات:

- كاشف بيوريت عبارة عن **محلول كبريتات النحاس في وسط قاعدي**. (أزرق اللون)
- يعطي الاختبار نتيجة ايجابية فقط عند وجود **رابطتين ببتيدين فأكثر** في جزئ البروتين.
- تم تسمية هذا الاختبار باسم بيوريت، لأن بيوريت 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:

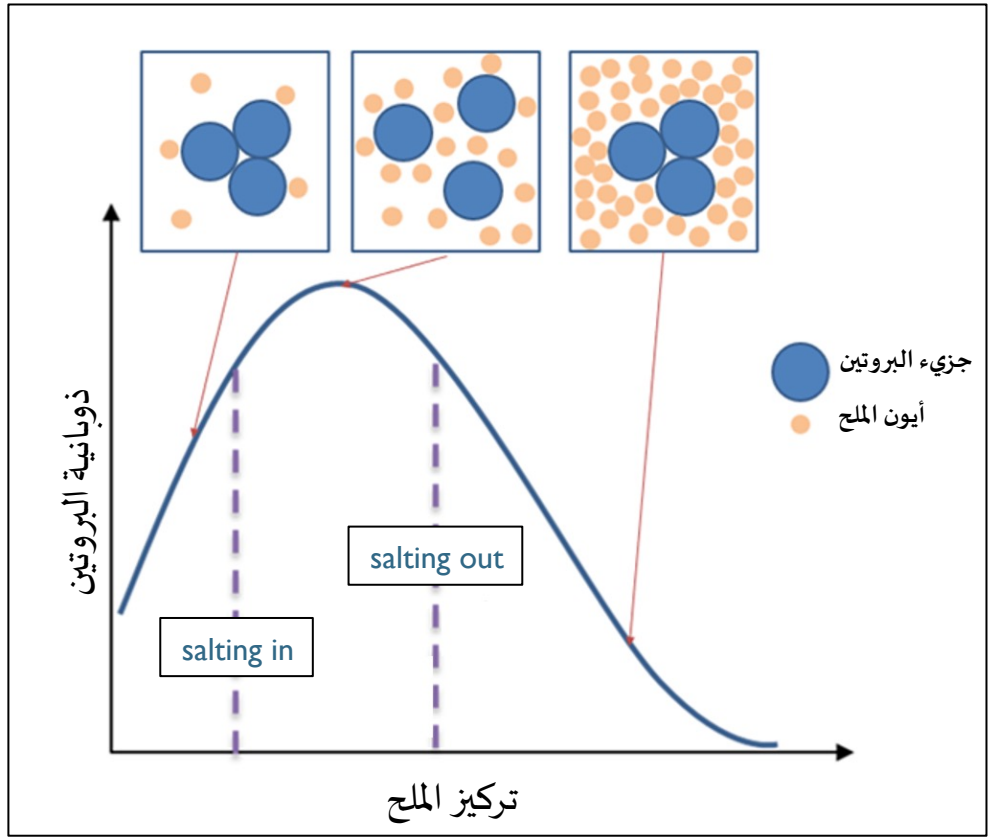
البروتين	الملاحظة	الاستنتاج
الألبومين (albumin)		
كازين (casein)		

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

ثالثًا: 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 بـsalting out.



النظرية العلمية للاختبار:

1- التراكيز المنخفضة من الملح (salting in): تساعد على استقرار جزيئات البروتين و إذابته 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.

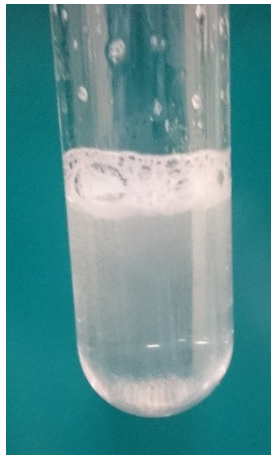
الهدف:

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

طريقة العمل:

1- أضيفي 2 مل من البروتين + 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.

تكون راسب أبيض بعد إضافة كبريتات الأمونيا المشبعة



اختفاء الراسب بعد إضافة NaCl (زادت الذوبانية)

النتائج:

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

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

رابعًا: 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:

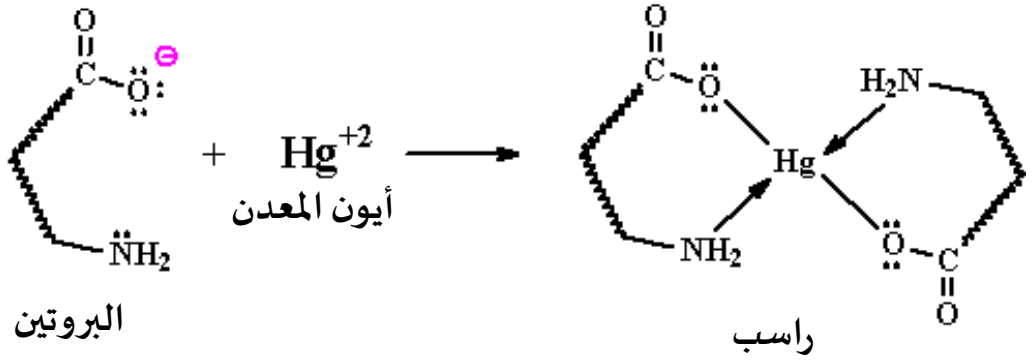
التعرف على تأثير أملاح الفضة على طبيعة تركيب البروتينات و نشاطها الحيوي.

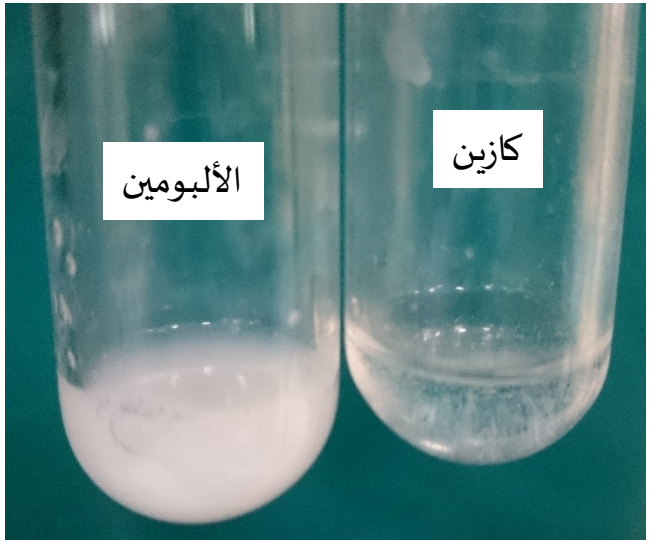
التطبيقات:

إيضاح خطورة التسمم بالرصاص وإيضاح إمكانية استخدام 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.

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

الهدف:

اختبار تأثير الاحماض القوية على البروتينات.

النظرية العلمية للاختبار:

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

تطبيقاتها:

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

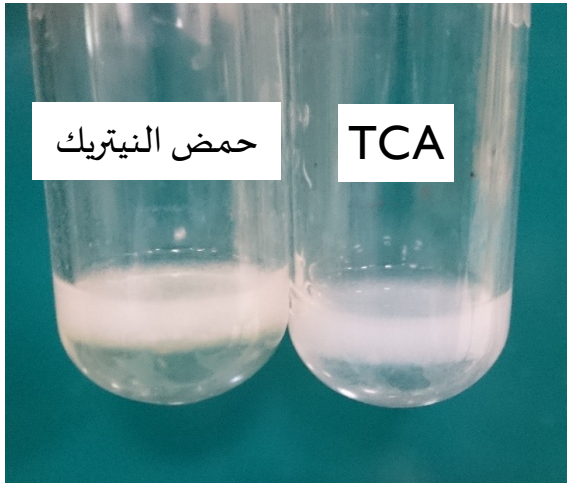
When handling acids:

- Wear appropriate protective eyeglasses or chemical safety goggles
- Wear appropriate protective gloves and clothing to prevent skin exposure.

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 ..... 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- اذكري أمثلة على المعادن الثقيلة التي تعمل على ترسيب البروتين؟

تجربة الترسيب بالأحماض القوية:

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

تم بحمد الله ....💙