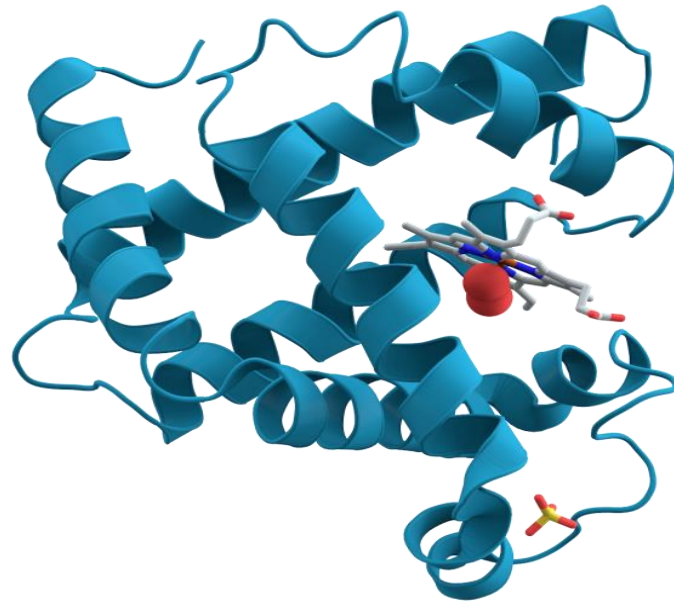


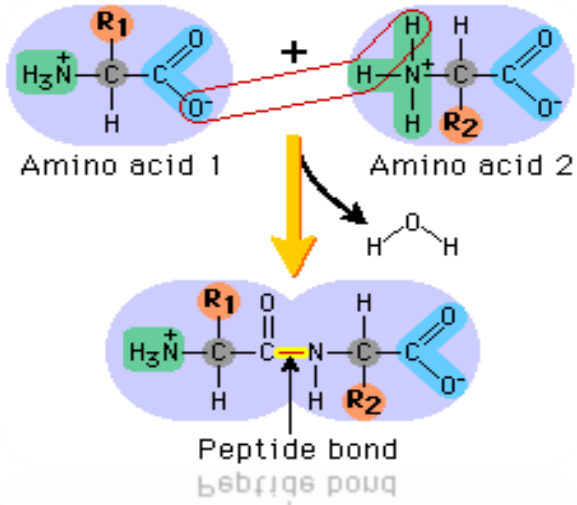
البروتينات (1)

Proteins 1



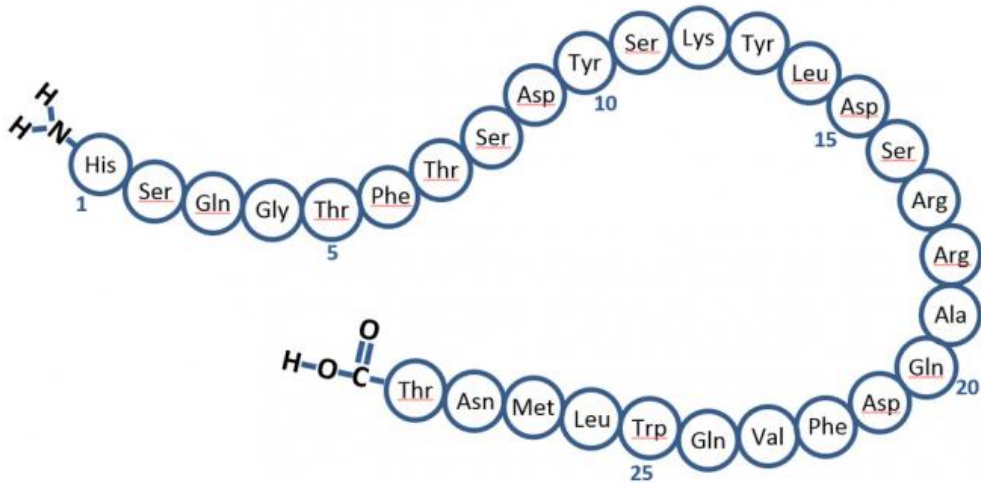
البروتينات Protein

- البروتينات مركبات عضوية ذات أوزان جزيئية كبيرة و هي عبارة عن سلاسل من الأحماض الأمينية المرتبطة ببعضها البعض بروابط ببتيدية.
- 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 السوائل العصبية والتحكم في التعبير الجيني و هي المكون الأساسي للأنسجة الحية.
- يتكون البروتين من 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 جزيء ماء.



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

- عدد ونوع الأحماض الأمينية المكونة لسلسلها الببتيدية .
- ترتيب وتتابع الأحماض الأمينية.
- إرتباط البروتين مع جزيئات أخرى غير بروتينية.



الأشكال البنائية للبروتين:

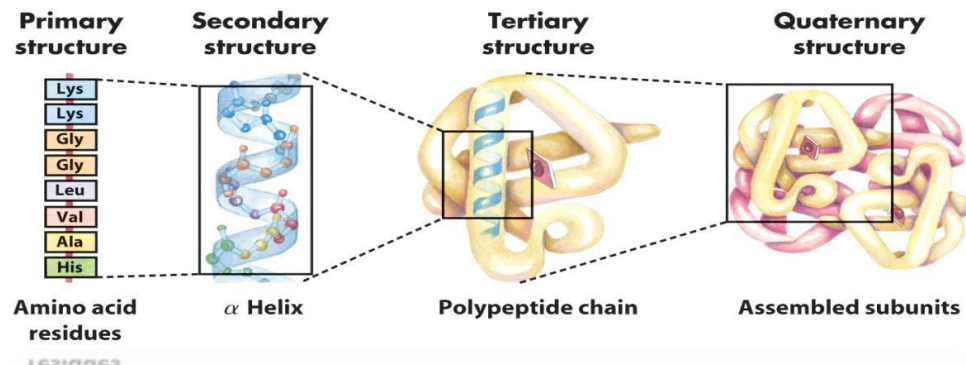
تأخذ السلاسل الببتيدية المكونة للبروتين أشكالاً فراغية ناتجة عن إتفاف تلك السلاسل معطيةً أربعة تراكيب بنائية.

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 إتفاف والتواء السلسلة الببتيدية مكونة إما شكل الصفيحة المطوية B-sheet او الشكل الحلزوني alpha helix

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

4- التركيب 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.



خواص البروتينات:

- البروتينات في هذا التركيب تصبح قادرة على أداء وظائف بيولوجية. وتشبه البروتينات في خصائصها الفيزيائية والكيميائية تلك الخصائص التي تتميز بها الأحماض الأمينية المكونة لها،
- لذا فالبروتينات خاصية أمفوتيرية في تفاعلها مع الأحماض فتحمل شحنة موجبة بينما مع القواعد نجد أنها تكتسب شحنة سالبة.
- ولذا فإن حركتها في المجال الكهربائي **تعتمد على قيمة pH** للوسط.
- تبدأ السلسلة الببتيدية المكونة للبروتينات بالطرف الأميني الحر وتنتهي بالطرف الكربوكسيلي.

نقطة التعادل الكهربائي للبروتين :

هي الأس الهيدروجيني pH التي يكون عندها محصلة الشحنات على الجزيء تساوي صفر. نتيجة لتساوي الشحنات الموجبة والسالبة على جزيء البروتين وعند هذه النقطة يصبح البروتين أقل ذوبانية فيسهل ترسيبه، وتختلف نقطة التعادل الكهربائي من بروتين إلى آخر حسب الأحماض الأمينية المكونة له.

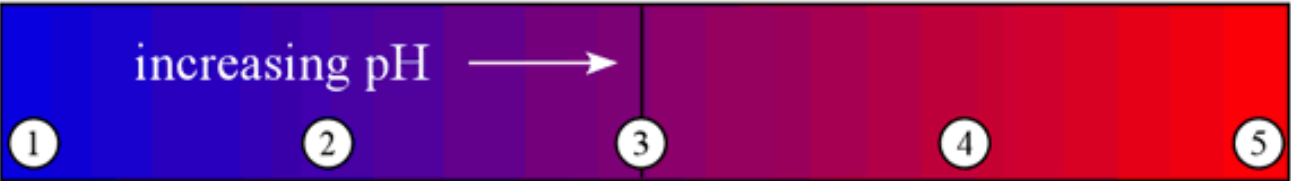
no net charge on protein

$$\text{pH} = \text{pI}$$



low pH

high pH

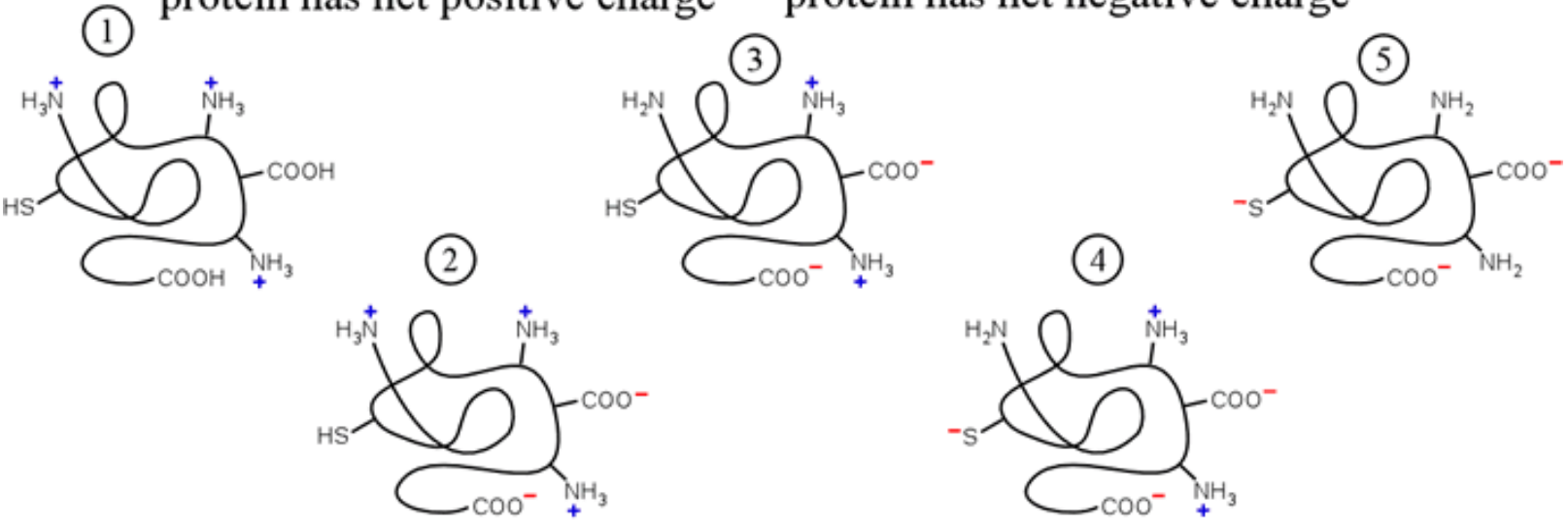


$\text{pH} < \text{pI}$

$\text{pH} > \text{pI}$

protein has net positive charge

protein has net negative charge



1- الاختبارات الوصفية للبروتينات (Qualitative tests of proteins)

1- إختبار ذوبان البروتينات (solubility of proteins)

2- إختبار البيوريت (Biuret test)

3- أثر الأملاح على ذوبانية البروتين (precipitation of proteins by salts)

4- ترسيب البروتينات بأملاح المعادن الثقيلة (precipitation of proteins by salts of heavy metals)

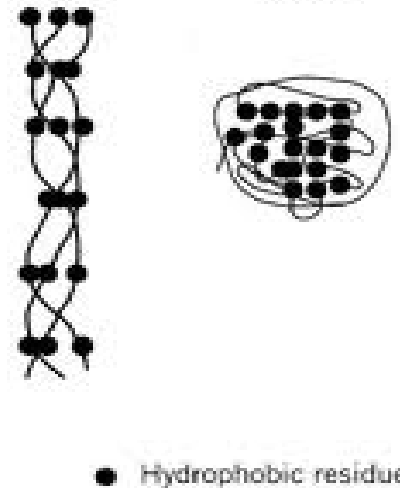
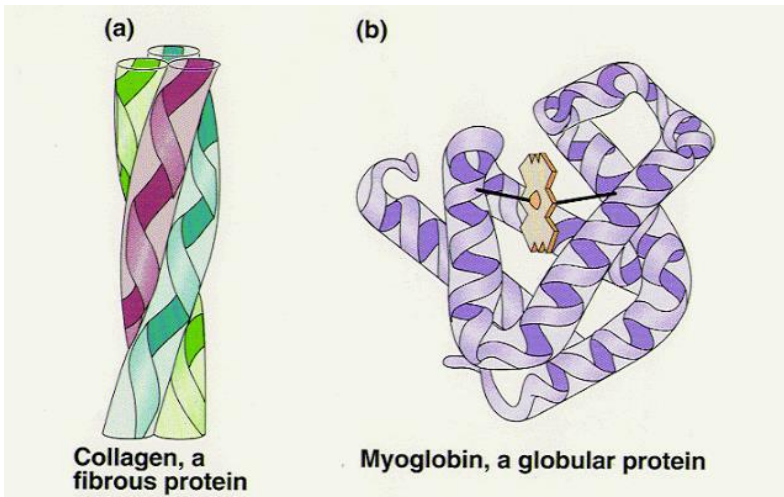
5- الترسيب بالأحماض القوية (precipitation of proteins by strong acids)

2- التقدير الكمي للبروتينات

1- ذوبان البروتينات (solubility of proteins) :

- البروتينات الليفية مثل الكيراتينات غير قابلة للذوبان بينما البروتينات الكروية تمثل القسم الأعظم و قابلة للذوبان في المذيبات القطبية و الأحماض و القلويات بدرجات مختلفة.
- تكون البروتينات مع الماء محاليل غروية نظراً لـ **كبر حجم جزيئات** البروتين، بينما في الوسط الحمضي فغالباً ما تكتسب الجزيئات الشحنة الموجبة ، أما في الوسط القاعدي فتكتسب جزيئات البروتين الشحنة السالبة فتصبح **قابلة للذوبان**.

الهدف من الاختبار: إختبار السلوك الأمفوتيري و الخاصية القطبية لجزيئات البروتين.



طريقة العمل:

- 1- اختبري ذوبان كل من البروتينات (الببومين، كازين) في كل من الماء البارد و الماء الحار و محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1% NaOH) عن طريق اضافة 1مل من البروتين + 2مل من المذيب.
- 2- سجلي قابلية ذوبان كل من البروتينات في جدول النتائج .
- 2- دوني ملاحظاتك وناقشي ما لاحظتيه.

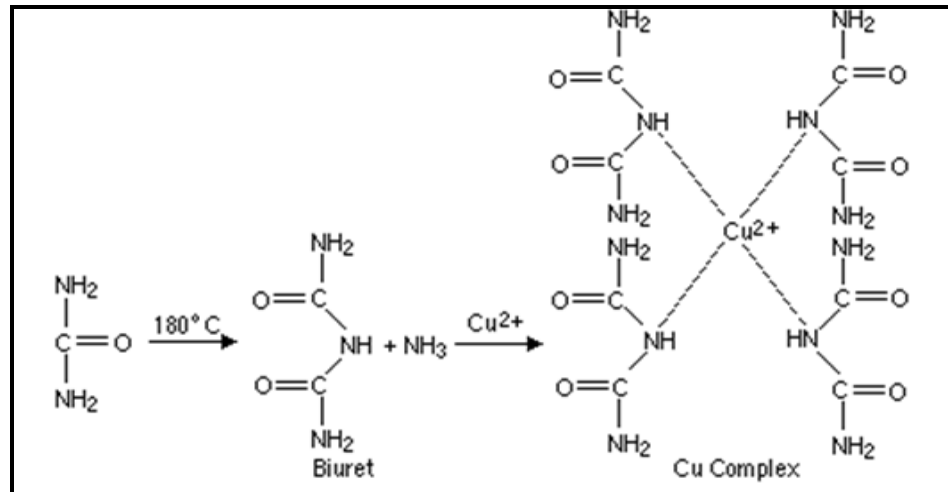
البروتين	نوع البروتين	قابلية الذوبان في الماء البارد	قابلية الذوبان في الماء الحار	قابلية الذوبان في 1%NaOH
الببومين	بسيط			
كازين	مرتبط			

2- إختبار بيوريت (Biuret test)

إختبار عام على البروتينات الذائبة و الصلبة. يهدف هذا الإختبار **التعرف على البروتينات** وتمييزها . عن بقية المواد كالكربوهيدرات و الليبيدات.

النظرية العلمية للاختبار:

يتفاعل البروتين مع محلول كبريتات النحاس في وسط قاعدي فيعطي نتيجة إيجابية فقط عند وجود رابطتين ببتيديتين فأكثر في جزئ البروتين. فيتفاعل أيون النحاس مع مجموعتي (-NH , -CO) في الرابطة الببتيدية مكوناً متراكباً **بنفسجي اللون** و قد تم تسمية هذا المركب بإسم مركب بيوريت لأن البيوريت هو المركب غير البروتيني الوحيد الذي يعطي نتيجة إيجابية مع هذا الإختبار.



طريقة العمل:

- 1- ضعي في كل أنبوبة 2مل من محلول البروتين.
- 2- أضيفي 1مل من كاشف بيوريت و رجي جيداً.



الاستنتاج	الملاحظة	الأنبوبة
		البيومين
		كازين

3- أثر الأملاح على ذوبانية البروتين (precipitation of proteins by salts)

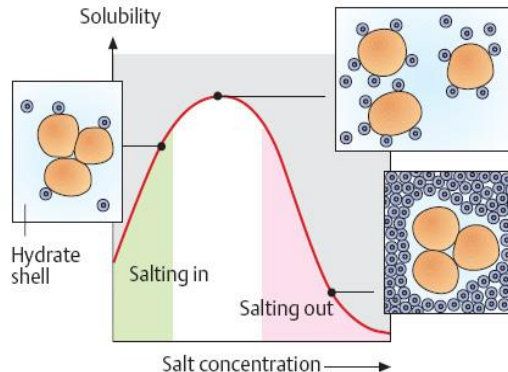
يتم ترسيب البروتينات باستخدام المحاليل المركزة للأملاح و يتميز كل بروتين بتركيز معين للملح يترسب عنده فيتم فصله عن البروتينات الأخرى في المحلول و تسمى هذه العملية بـ **salting out**

الهدف من الاختبار:

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

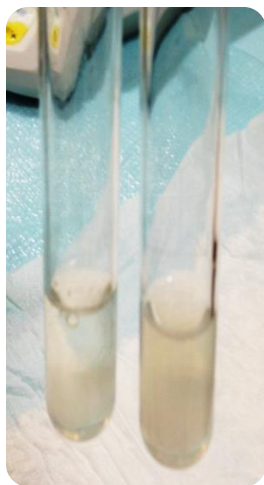
النظرية العلمية للاختبار:

التراكيز المنخفضة من الملح تساعد على إستقرار جزيئات البروتين و إذابته نتيجة للتجاذب بين أيونات الملح و المجموعات الفعالة في البروتين. بينما في التراكيز العالية فإن أيونات الملح تنافس جزيئات البروتين على الإرتباط بجزيئات الماء فيقل إستقرار 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.



طريقة العمل:

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



تكون راسب أبيض عند اضافة
كبريتات الأمونيوم المشبعة



اختفاء الراسب بعد اضافة
NaCl

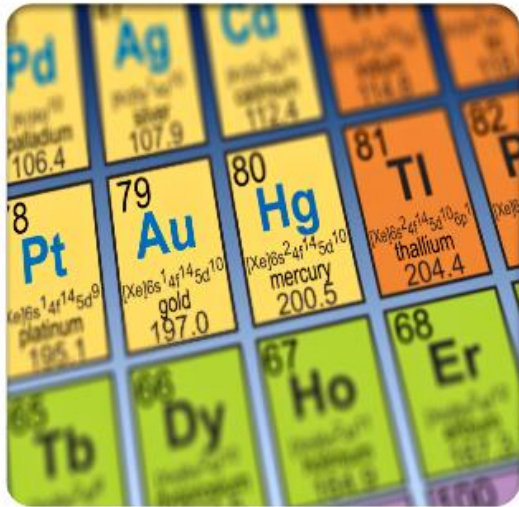
إضافة كلوريد الصوديوم	إضافة محلول كبريتات أمونيوم مشبع	البروتين
		ألبومين
		كازين

4- ترسيب البروتينات بأأملاح المعادن الثقيلة (precipitation of proteins by salts of heavy metals)

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

الهدف من الاختبار:

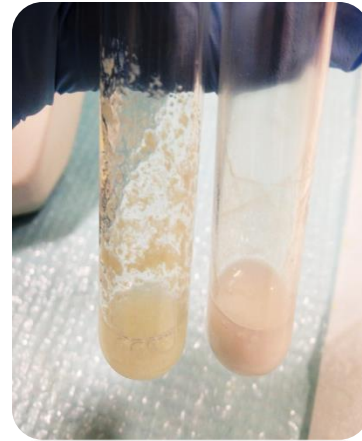
التعرف على تأثير أملاح الفضة على طبيعة تركيب البروتينات و نشاطها الحيوي



طريقة العمل :

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

النتائج:



الاستنتاج	AgNO ₃	الأنبوبة
		البيومين
		كازين

5- الترسيب بالأحماض القوية (precipitation of proteins by strong acids)

الهدف من التجربة:

- 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 (NO₃) و تعمل 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 الألبومين 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 الألبومين قطرة قطرة على جدار الأنبوبة ولاحظي تكون الراسب.

النتائج:



النتيجة	
	الألبومين+حمض النيتريك
	الألبومين +ثلاثي كلوريد حمض الخليك