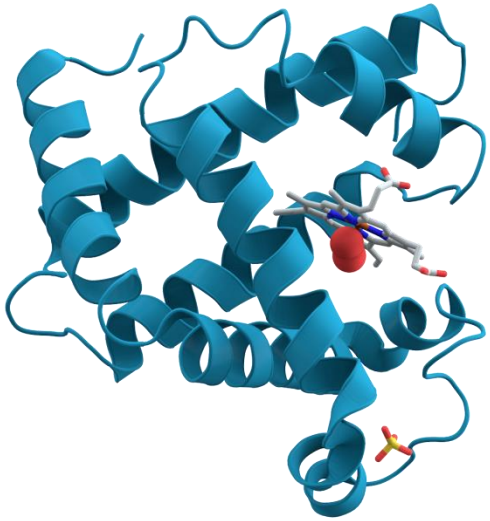
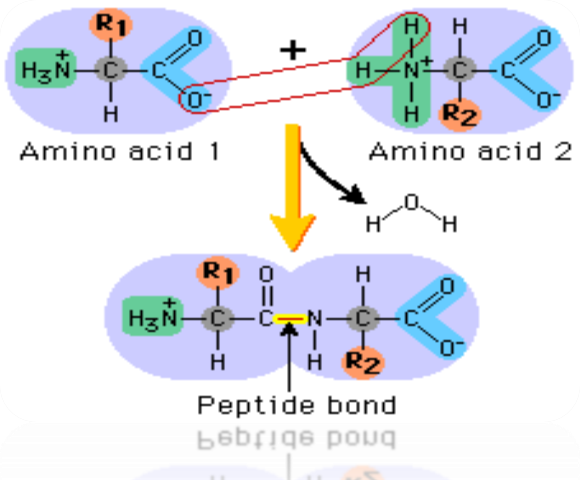
البروتينات (١)

Proteins 1



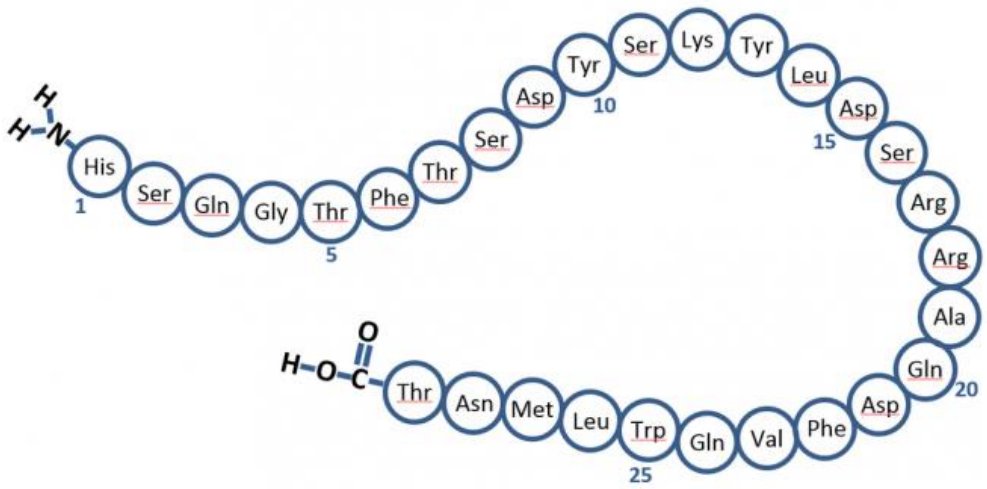
البروتينات Protein

- 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 السيالات العصبية والتحكم في التعبير الجيني و هي المكون الأساسي للأنسجة الحية.
- يتكون البروتين من سلسلة من الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها بروابط بيبتيدية و فيها ترتبط مجموعة الكربوكسيل في حمض أميني مع مجموعة الأمين في حمض أميني آخر مع إزالة جزئ ماء.



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

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



الأشكال البنائية للبروتين:

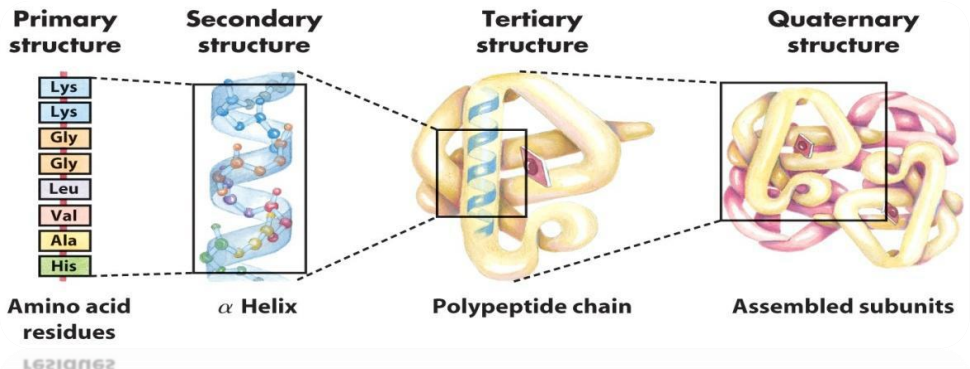
تأخذ السلاسل الببتيدية المكونة للبروتين أشكالاً فراغية ناتجة عن إلتفاف تلك السلاسل معطيةً أربعة تراكيب بنائية.

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 مع بعضها البعض مما يتسبب في إلتفاف والتواء السلسلة الببتيدية مكونة إما شكل الصفيحة المطوية B-sheet او الشكل الحلزونيalpha helix

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

٤- 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.



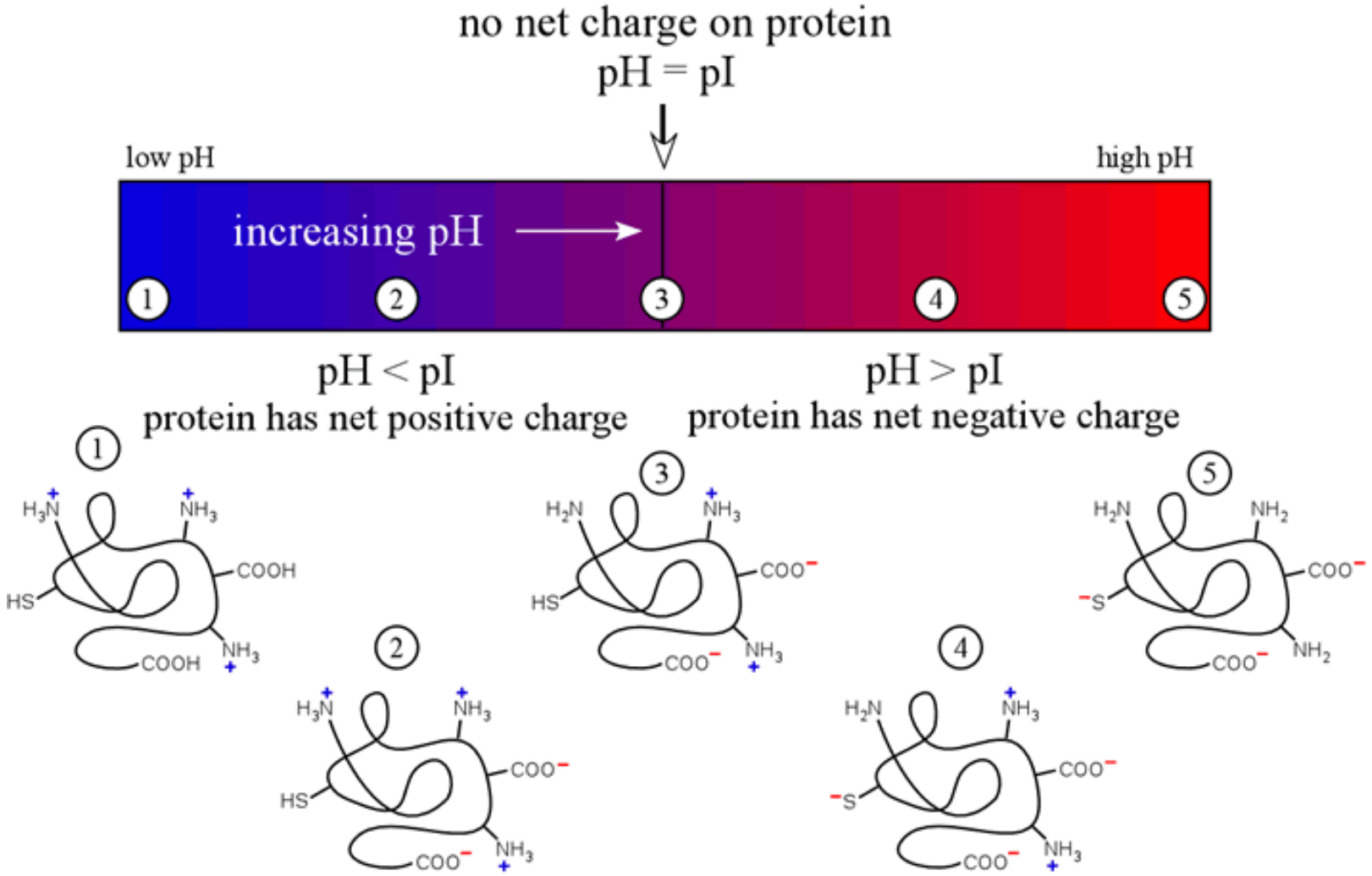
خواص البروتينات:

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، لذا 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** للوسط.

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

نقطة التعادل الكهربي للبروتين :

هي الأس الهيدروجيني pH التي يكون عندها محصلة الشحنات على الجزئ **تساوى 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
H3N
NH3
COOH
HS
COOH
NH3
H2N
COO
S
NH2

١- الاختبارات الوصفية للبروتينات (Qualitative tests of proteins)

١ –إختبار ذوبان البروتينات (solubility of proteins)

٢- إختبار البيوريت (Biuret test)

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

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

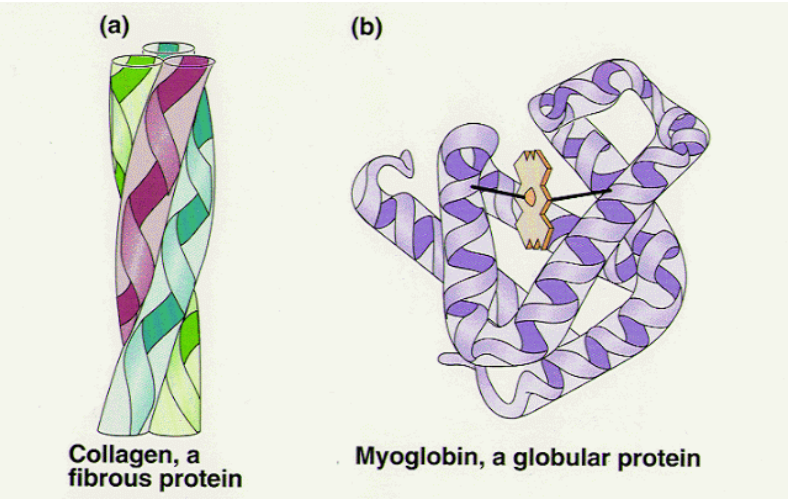
٥- الترسيب بالأحماض القوية (precipitation of proteins by strong acids)

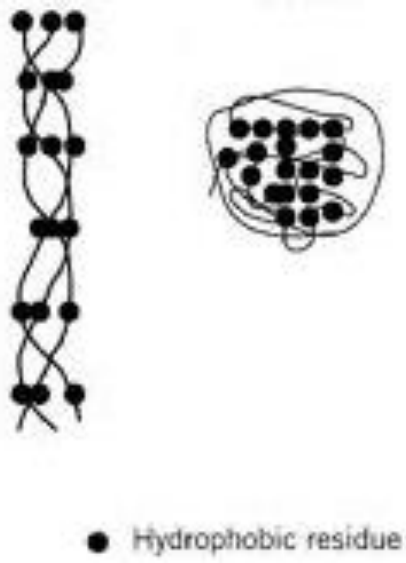
٢- التقدير الكمي للبروتينات

١- 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 **لكبر 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:

١- اختبري ذوبان كل من البروتينات (البيومين، كازين) في كل من الماء البارد و الماء الحار و محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1% NaOH)عن طريق اضافة ١مل من البروتين + ٢مل من المذيب.

٢- سجلي قابلية ذوبان كل من البروتينات في جدول النتائج .

٢- دوني ملاحظاتك وناقشي ما لاحظتيه.

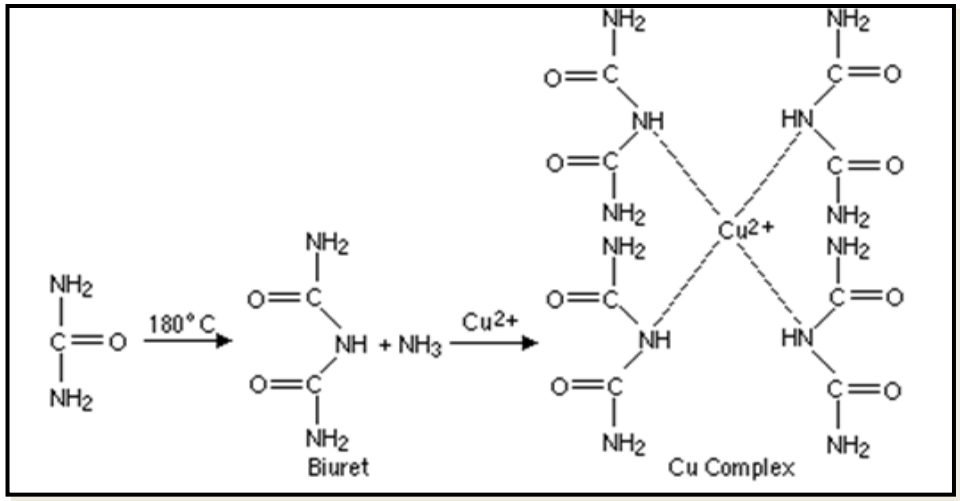
البروتين	نوع البروتين	قابلية الذوبان في الماء البارد	قابلية الذوبان في الماء الحار	قابلية الذوبان في1%NaOH
البيومين	بسيط			
كازين	مرتبط			

٢- إختبار بيوريت (Biuret test)

إختبار 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 فيعطي نتيجة إيجابية فقط عند وجود رابطتين ببتيديتين فأكثر في جزئ البروتين. فيتفاعل أيون النحاسيك مع مجموعتي (-CO , -NH) في الرابطة البيبتيدية 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 الاختبار.



طريقة العمل:

١- ضعي في كل أنبوبة ٢مل من محلول البروتين.
٢- أضيفي ١مل من كاشف بيوريت و رجي جيداً.

الأنبوبة	الملاحظة	الاستنتاج
البيومين		
كازين		

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

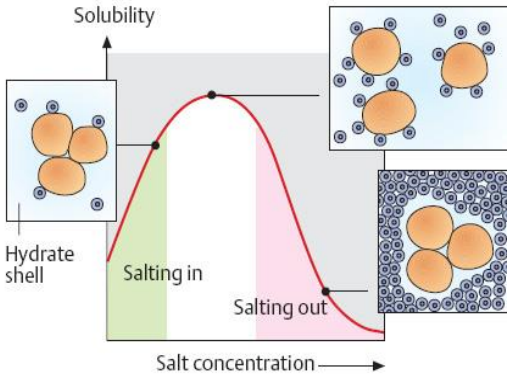
يتم ترسيب البروتينات بإستخدام المحاليل المركزة للأملاح و يتميز كل بروتين بتركيز معين للملح يترسب عنده فيتم فصله عن البروتينات الأخرى في المحلول و تسمى هذه العملية بـ salting out

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.

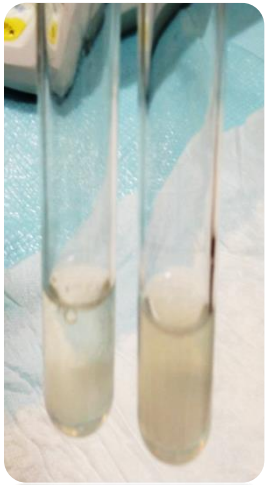


طريقة العمل:

١- أضيفي ٢ مل من البروتن + ١مل كبريتات الامونيوم المشبعه ، لاحظي التغير.
٢- ثم أضيفي ٢,٥ مل على نفس الانبوبة كلوريد الصوديوم NaCl 1%
دوني النتائج في الجدول.

البروتين	إضافة محلول كبريتات أمونيوم مشبع	إضافة كلوريد الصوديوم
ألبيومين		
كازين		

اختفاء الراسب بعد اضافة NaCl



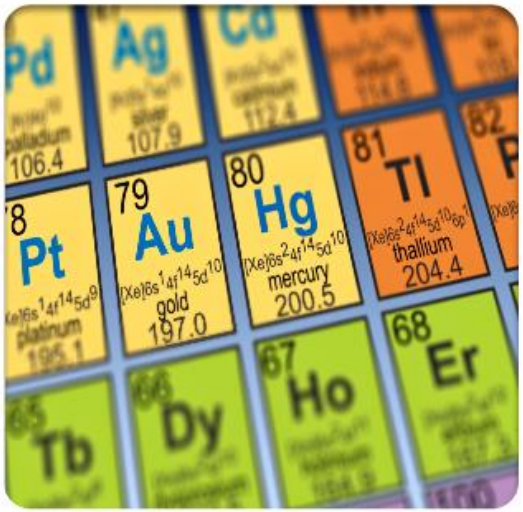
تكون راسب أبيض عند اضافة كبريتات الأمونيوم المشبعة

٤- 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 من الاختبار:

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

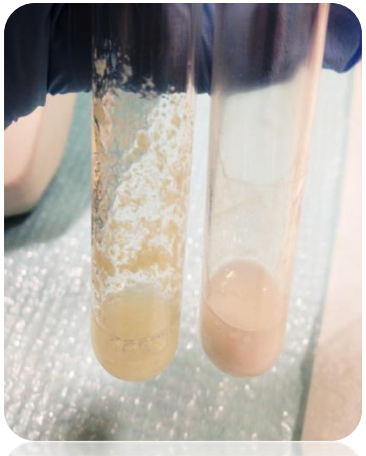


طريقة العمل :

١- ضعي في كل أنبوب ١مل من محلول البروتين.
٢- أضيفي ٠,٥ مل من نترات الفضة.

النتائج:

الأنبوبة	$AgNO_3$	الاستنتاج
البيومين		
كازين		



٥- 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 (NO_3) و تعمل على ترسيبها.

طريقة العمل :

١- **في الأنبوبة الأولى** ضعي ٢ مل من حمض النيتريك المركز في أنبوب اختبار مع المحافظة على وضع الأنبوبة بشكل مائل

٢- أضيفي محلول الألبيومين قطرة قطرة على جدار الأنبوبة ولاحظ تكون الراسب.

٣- **في الأنبوبة الثانية** أضيفي ٢ مل من ثلاثي كلوريد حمض الخليك مع المحافظة على وضع الأنبوبة بشكل مائل.

٤- أضيفي محلول الألبيومين قطرة قطرة على جدار الأنبوبة ولاحظي تكون الراسب.

النتائج:

	النتيجة
الالبيومين+حمض النيتريك	
الالبيومين +ثلاثي كلوريد حمض الخليك