

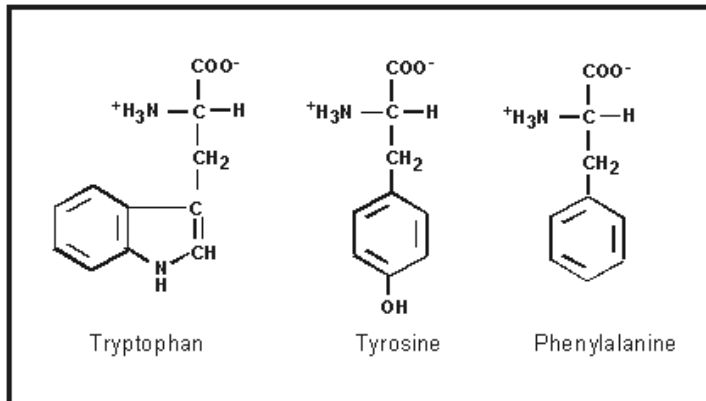
التقدير الكمي للبروتينات

Quantitative Proteins Estimation



التقدير الكمي للبروتينات (Quantitative Proteins Estimation)

- تقدير البروتينات كمياً يساعد على معرفة التراكيز القياسية لبروتينات معينة كما أن له دلالات تشخيصية عند إرتفاع أو انخفاض تركيز البروتينات عن المستوى الطبيعي, وله أهمية في معرفة المحتوى البروتيني للعينات الحيوية و الغذائية.
- تعتبر مقدرة الجزيئات على **امتصاص أطياف الضوء** من أكثر الطرق الكيموحيوية المستخدمة في تقدير كميات الجزيئات في محاليلها، ومن هذه الجزيئات المهمة على مستوى الخلية الحية هي البروتينات التي لها القدرة على الإمتصاص الضوئي لوجود بعض الأحماض الأمينية الحلقية العطرية (تربتوفان – فينيل ألانين – تيروسين).
- هناك أجهزة خاصة لقياس امتصاص الطيف الضوئي تسمى اسبكتروفوتوميتر (spectrophotometer) يمكن من خلالها تقدير البروتينات عند طول موجي معين.

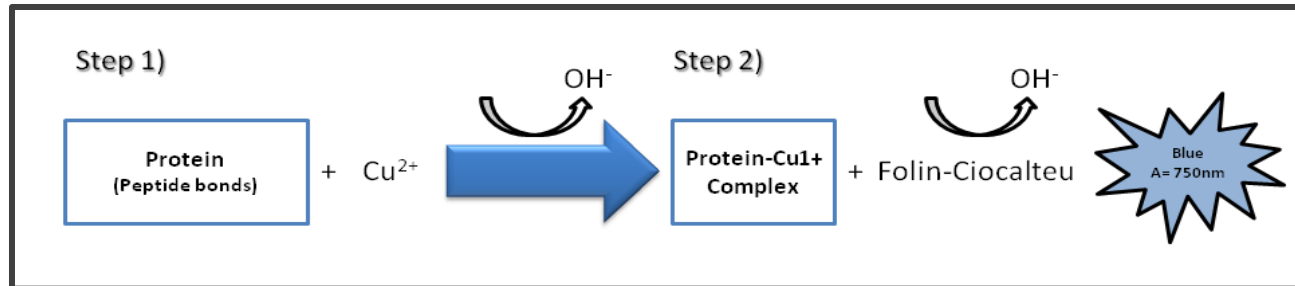


طريقة لاوري (Lowry method)

تقدير البروتينات بطريقة لاوري هي من الطرق الشائعة و ذلك لسهولة استخدامها و كذلك لحساسيتها العالية فهي تستخدم في تقدير البروتينات المخففة عندما يكون تركيزها منخفض. و تعتبر طريقة لاوري تطوير و مشتقة من طريقة بيوريت للكشف عن البروتينات.

النظرية العلمية للاختبار:

- (١) عند معاملة البروتين بمحلول كبريتات النحاس في وسط قاعدي فإن أيون النحاسيك يكون معقد مع الرابطة الببتيدية في البروتين ويسمى معقد بيوريت
- (٢) هذا المعقد يختزل محلول فولن (الذي يتكون من أملاح معقدة من تنجستات فوسفومليبيدات) ليعطي لون أزرق يمكن قياس الإمتصاص الضوئي له عند 660 nm طول موجي



الطريقة :

١- في سبعة أنابيب أضيفي التالي :

الأنبوبة	حجم الماء (ml)	حجم الألبومين 100 mg\dl (ml)	حجم عينة الألبومين مجهولة التركيز
Blank	١ مل	-	
A	٠,٨ مل	٠,٢ مل	
B	٠,٦ مل	٠,٤ مل	
C	٠,٤ مل	٠,٦ مل	
D	٠,٢ مل	٠,٨ مل	
E	-	١ مل	
F	-	-	١ مل

٢- أضيفي ٣ مل من محلول C على جميع الأنابيب ، رجي الأنابيب لمزج محتوياتها فور الاضافة لكل انبوبة، انتظري ١٥ دقيقة.

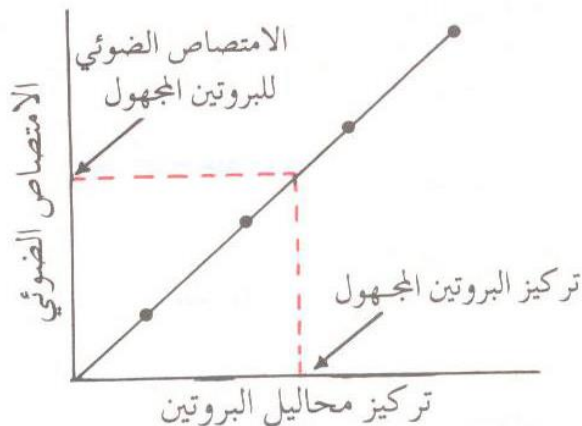
٣- أضيفي ٠,٣ مل من كاشف فولن، رجي الأنابيب لمزج محتوياتها ، انتظري ٤٥ دقيقة
ثم قيسي الإمتصاص الضوئي عند طول موجي 660 nm



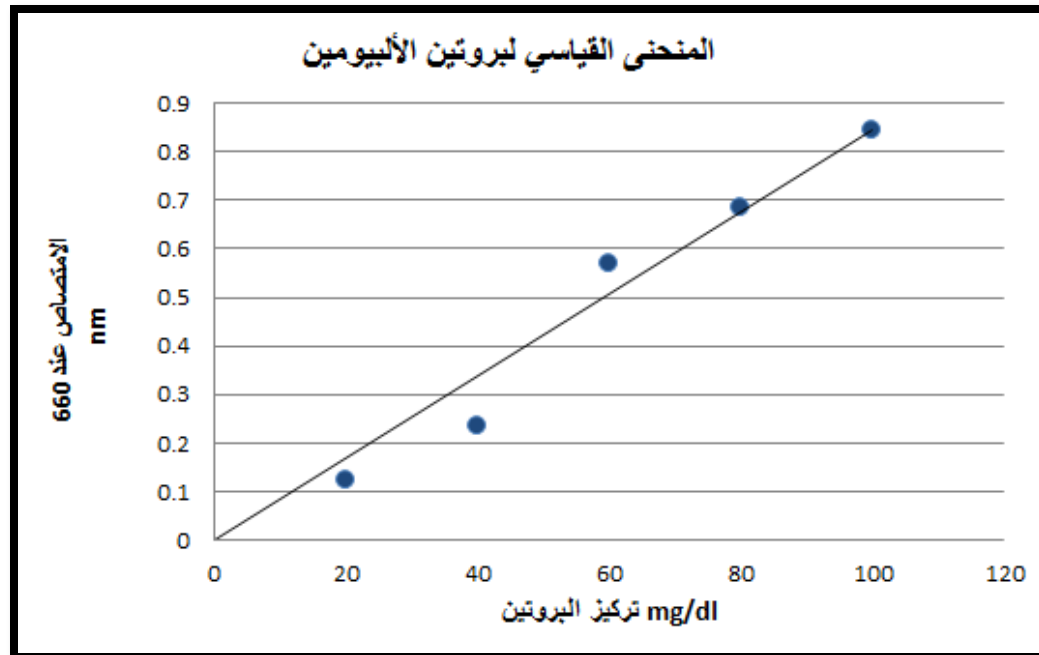
النتائج :

الأنبوبة	تركيز البروتين mg/dl	الإمتصاص الضوئي عند 660nm
A	20	
B	40	
C	60	
D	80	
E	100	
F	

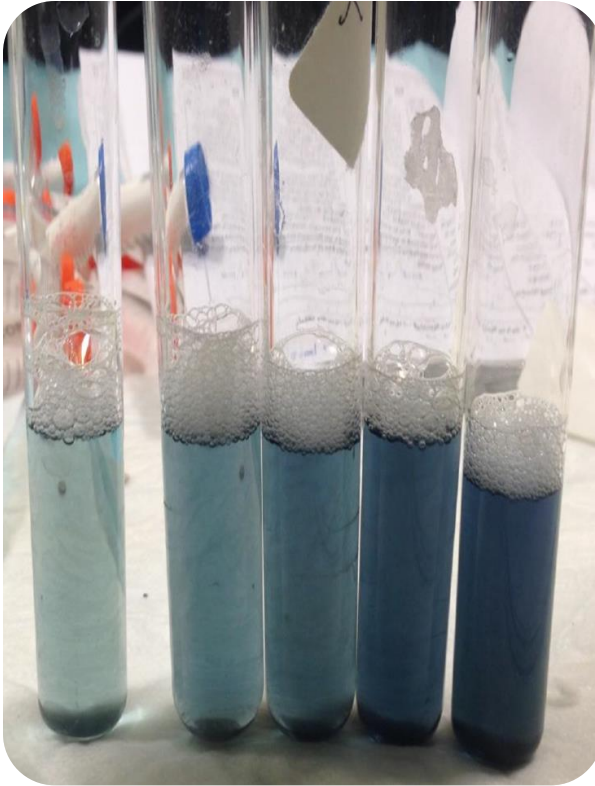
- إرسمي منحنى قياسي يوضح العلاقة بين تركيز البروتين (على المحور الأفقي) و الإمتصاص الضوئي (على المحور الرأسي) وذلك على ورقة رسم بياني.
- إستنتجي من الرسم البياني تركيز محلول البروتين المجهول وذلك بمعلومية الإمتصاص الضوئي له.



- يجب إعداد **منحنى قياسي** لبروتينات معلومة التراكيز وذلك لإستخدامه في تقدير البروتينات مجهولة التراكيز.
- يمكن من المنحنى القياسي حساب تركيز البروتينات المجهولة بمعرفة مقدار الإمتصاص الضوئي لها.
- **المنحنى القياسي** : هو منحنى يعكس العلاقة بين تراكيز معلومة لمادة (بروتين) و الامتصاص الضوئي لهذه التراكيز عند طول موجي معين.
- هناك علاقة طردية (خطية) بين تركيز العينة و قيمة الامتصاص.



تدرج بالألوان يبتدأ من اللون الأخف (التركيز الأقل) و ينتهي باللون الغامق (التركيز الأعلى).



العينة ذات التركيز الأعلى ← تمتلك أعلى قيمة امتصاص ← و اللون الأغمق



ملاحظة: إذا لم يرد عمل منحنى قياسي نكتفي بتحضير محلول بروتيني قياسي واحد فقط ثم نستخدم المعادلة الحسابية التالية لحساب تركيز محلول بروتيني مجهول:

مثال:

نفرض ان المحلول القياسي تركيزه $50 \mu\text{g/ml}$ وامتصاصه الضوئي $= 1.33$ ، والامتصاص الضوئي للعينة المجهولة $= 2.40$ ، كم تركيز العينة المجهولة؟

$$\begin{array}{ccc} 50 \mu\text{g/ml} & \longrightarrow & 1.33 \\ \mu\text{g/ml العينة المجهولة كم تركيزها ب} & \longrightarrow & 2.40 \end{array}$$

$$\text{تركيز العينة المجهولة} = \frac{50 \times 2.40}{1.33} = 90.22 \mu\text{g/ml}$$

