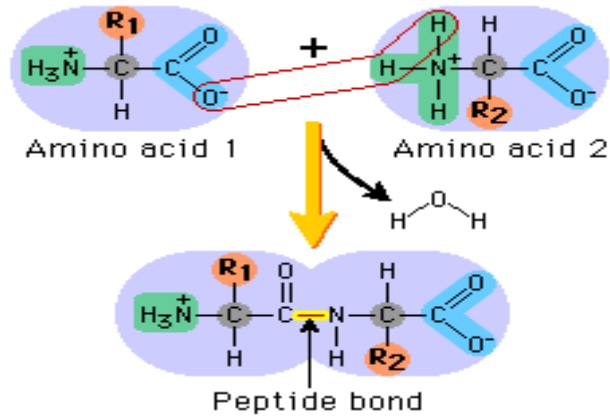


(4)
البروتينات -1-
proteins

ما هي البروتينات (proteins)؟

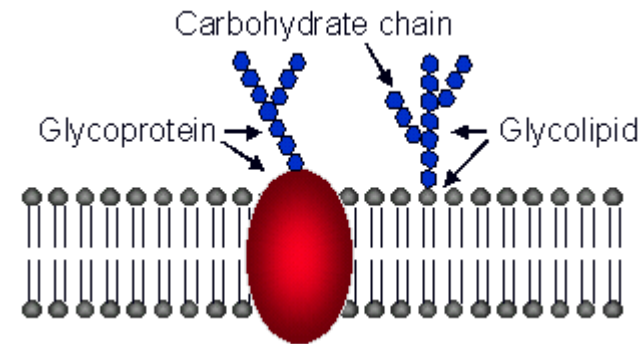
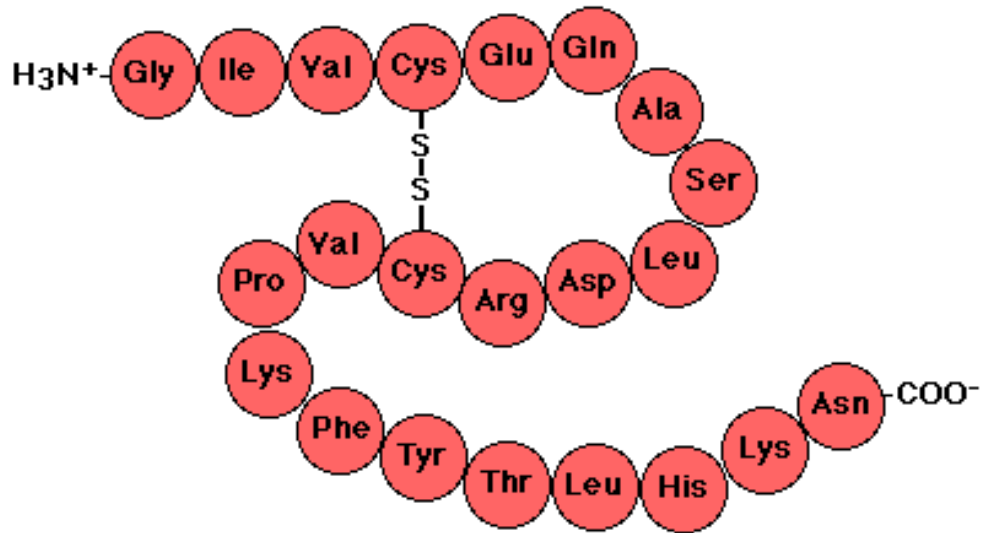


التركيب الكيميائي للبروتين:

- البروتينات مركبات عضوية ذات أوزان جزيئية كبيرة.
- وهي عبارة عن سلسلة من الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها بروابط بيبتيديّة و فيها ترتبط مجموعة الكربوكسيل في حمض أميني مع مجموعة الأمين في حمض أميني آخر مع إزالة جزيء 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 السوائل 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 الببتيدية.
2. ترتيب وتتابع الأحماض الأمينية.
3. ارتباط البروتين مع جزيئات أخرى غير بروتينية.

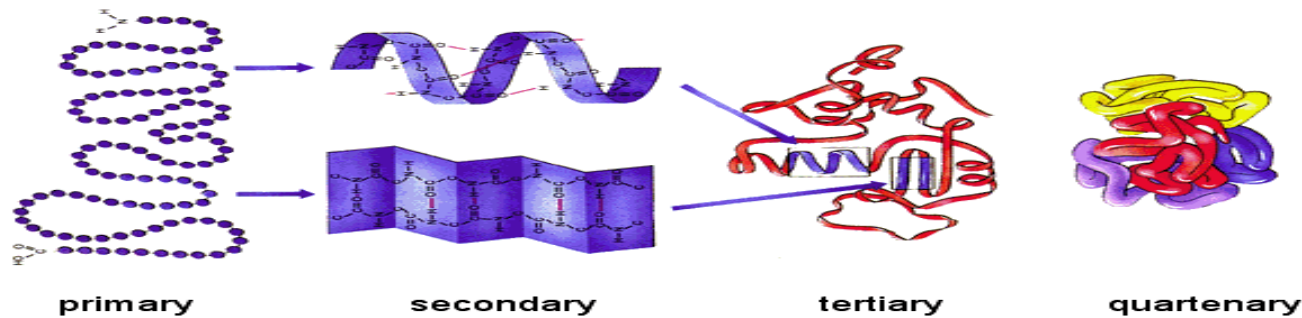


الأشكال البنائية للبروتين :

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

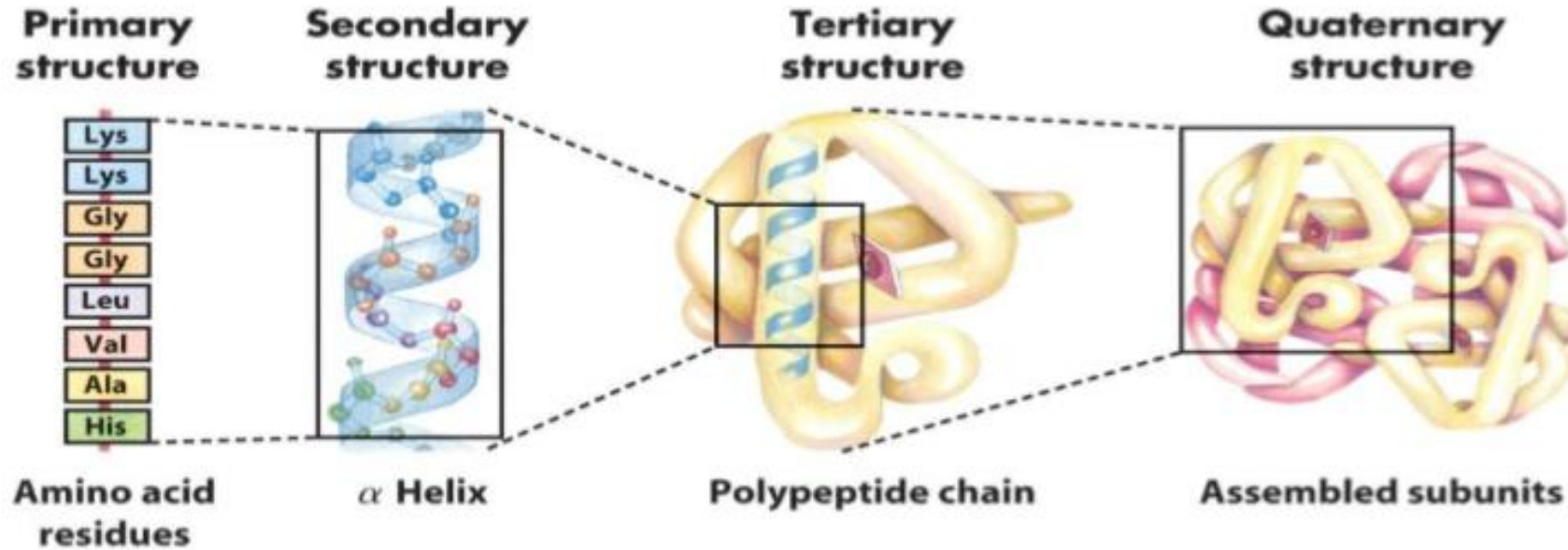
1- التركيب البنائي الأولي (Primary structure): يعبر عن تسلسل وتتابع الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها البعض بروابط ببتيدية.

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

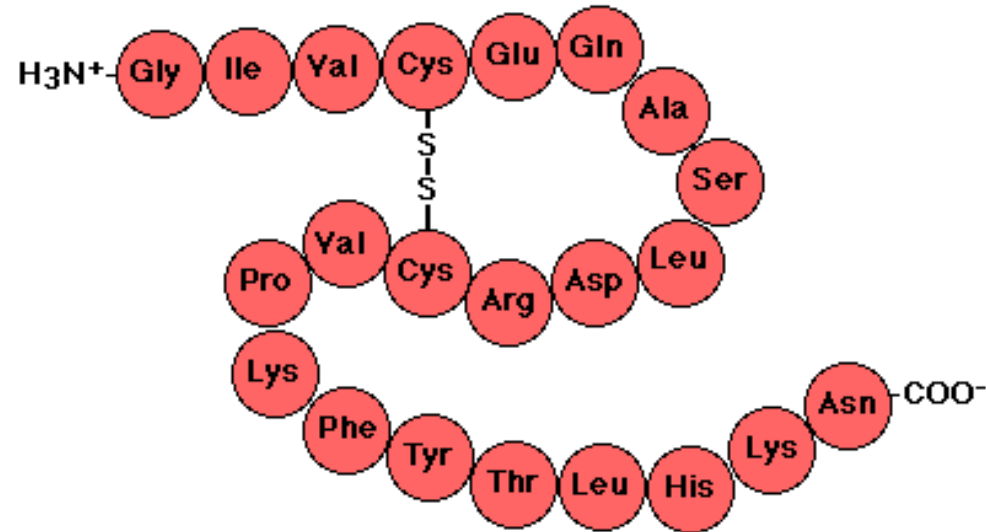


3- التركيب البنائي الثلاثي (Tertiary structure): ينتج عن تكوين روابط هيدروجينية و أيونية بين المجموعات الطرفية (R-group) للأحماض الأمينية البعيدة عن بعضها مكونة الشكل الثلاثي الأبعاد.

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.



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



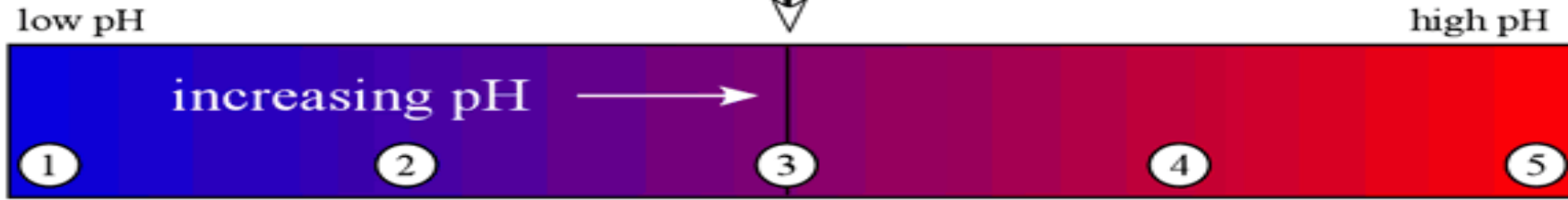
خواص البروتينات (protein properties) :

- تشبه البروتينات في خصائصها الفيزيائية والكيميائية تلك الخصائص التي تتميز بها الأحماض الأمينية المكونة لها.
- فللبروتينات 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 .

نقطة التعادل الكهربائي للبروتين (isoelectric point (pI) :

- هي الرقم 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.
- تختلف نقطة التعادل الكهربائي من بروتين إلى آخر حسب الأحماض الأمينية المكونة له.

no net charge on protein
 $\text{pH} = \text{pI}$

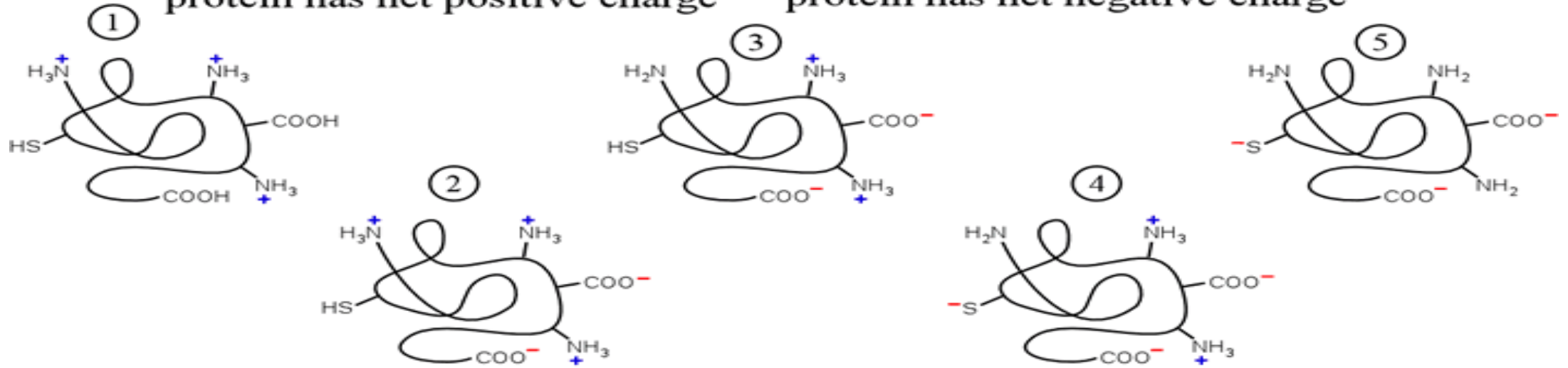


$\text{pH} < \text{pI}$

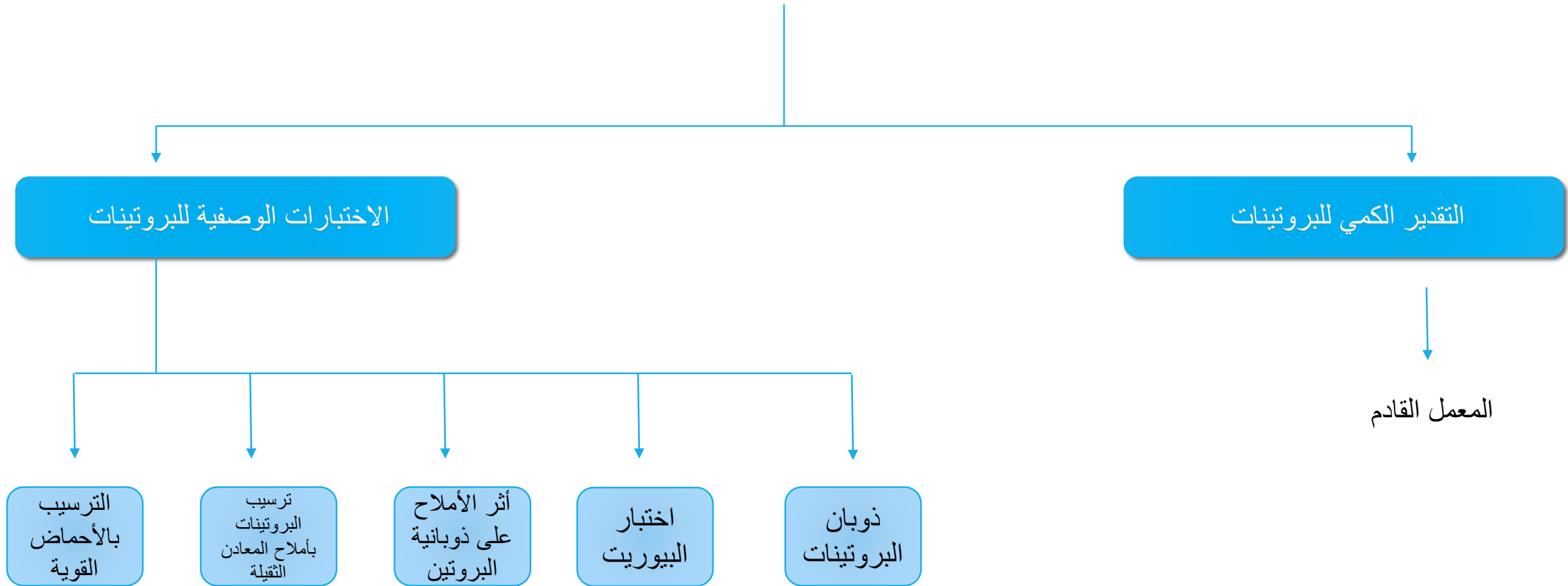
protein has net positive charge

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

protein has net negative charge

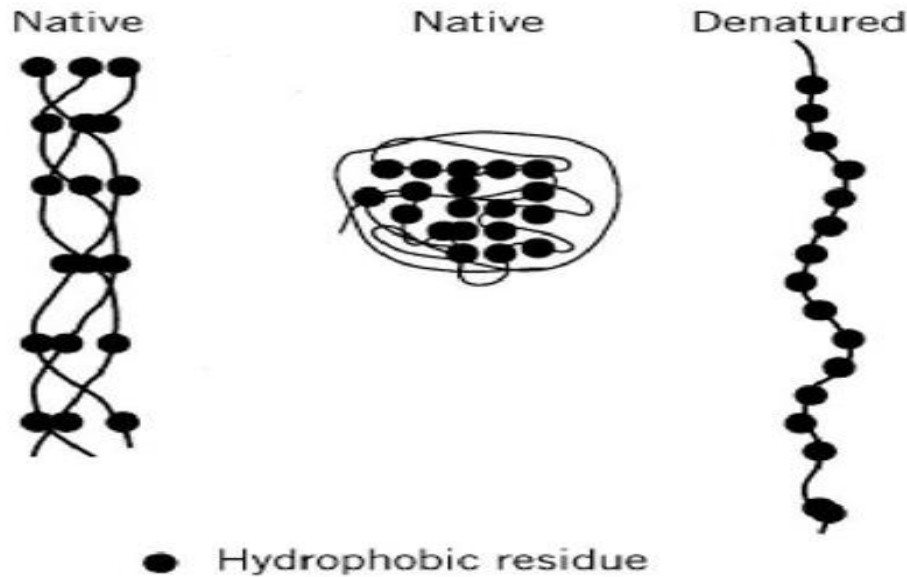


الجزء العملي



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.



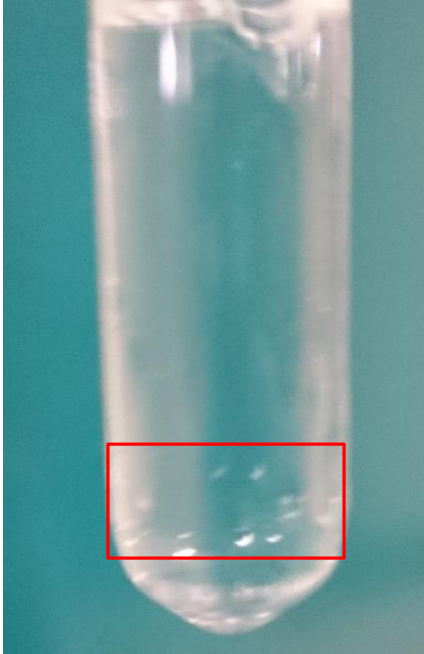
المبدأ العلمي للتجربة :

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 (البومين، كازين) في كل من الماء و هيدروكسيد الصوديوم (0.1%NaOH) ، 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 هيدروكسيد الصوديوم
الألبومين (albumin)	بسيط		
كازين (casein)	مرتبط		

المناقشة:

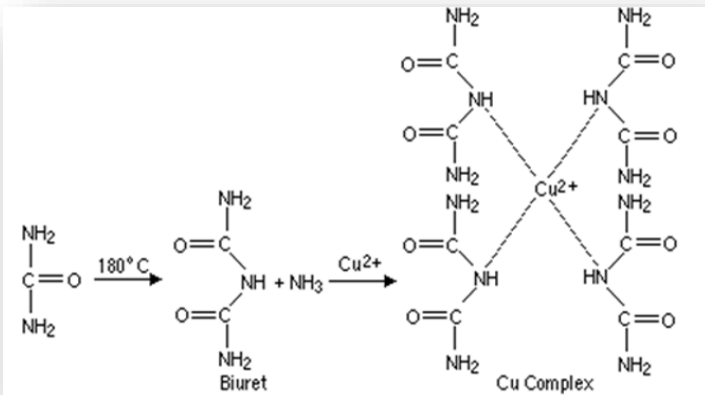
اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

ثانياً: اختبار البيوريت (biuret reaction) :

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

النظرية العلمية للاختبار:

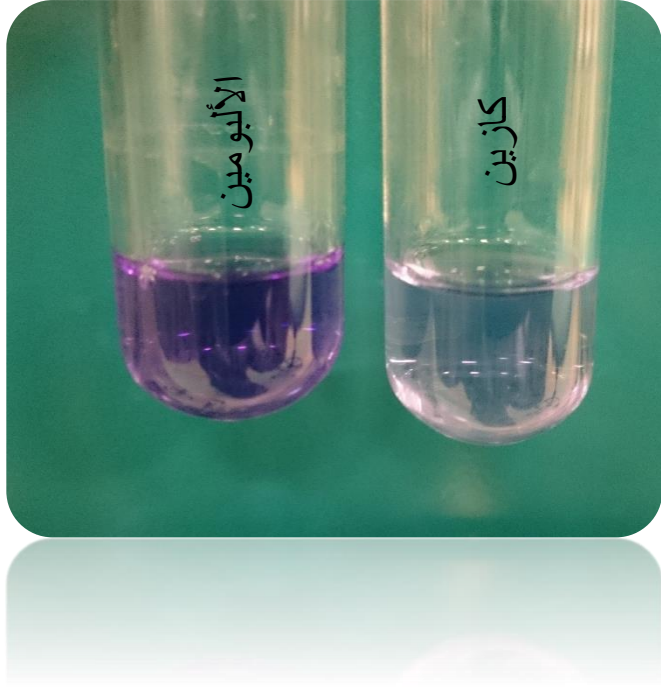
يتفاعل البروتين مع محلول كبريتات النحاس في وسط قاعدي ، فيتفاعل أيون النحاس مع مجموعتي (-NH, -CO) في الرابطة الببتيدية مكوناً **مترابكاً بنفسجي اللون**.



ملاحظات:

- يعطي الاختبار نتيجة ايجابية فقط عند وجود رابطتين ببتيديين فأكثر في جزئ البروتين.
- تم تسمية هذا الاختبار بإسم بيوريت ، لأن البيوريت هو المركب غير البروتيني الوحيد الذي يعطي نتيجة ايجابية مع هذا الاختبار.
- اللون الأزرق ليست نتيجة ايجابية بل هو لون الكاشف.





طريقة العمل:

- 1- ضعي في كل أنبوبة 2 مل من محلول البروتين.
- 2- أضيفي 1 مل من كاشف

النتائج:

البروتين	الملاحظة	الاستنتاج
الألبومين (albumin)		
كازين (casein)		

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

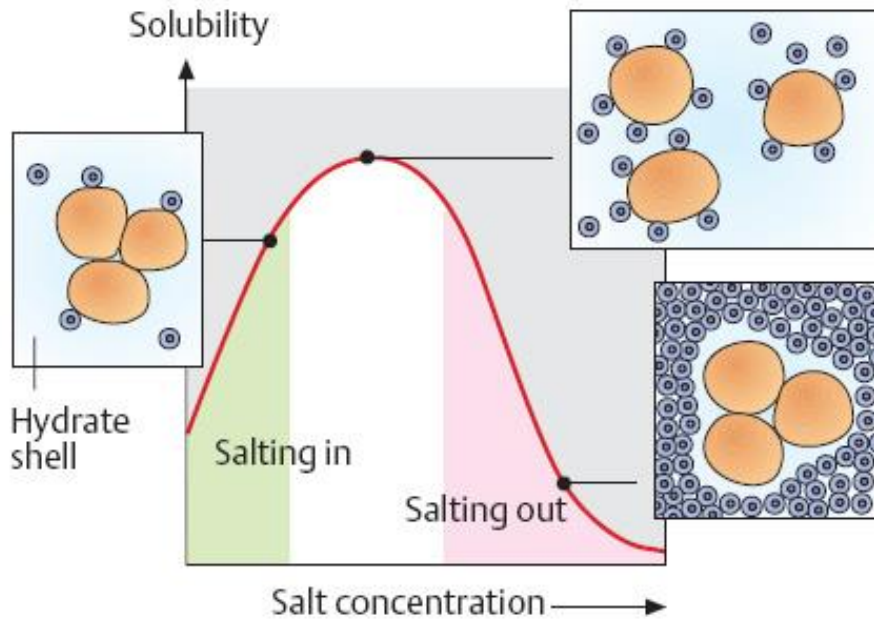
ثالثاً: أثر الأملاح على ذوبانية البروتين (precipitation of proteins by salts) :

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.



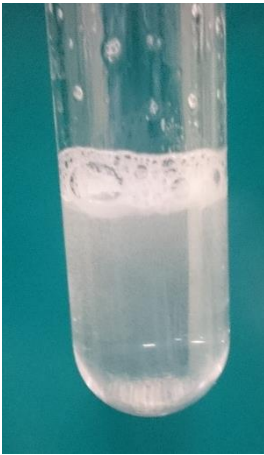
الهدف: بيان أن التراكيز **القليلة** من الملح قد تساعد على ذوبان البروتينات بينما التراكيز **العالية** تسبب ترسيب البروتين.

طريقة العمل:

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

النتائج:

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



اختفاء الراسب بعد
إضافة NaCl
(زادت الذوبانية)

تكون راسب أبيض
بعد إضافة كبريتات
الأمونيا المشبعة

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلت 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.

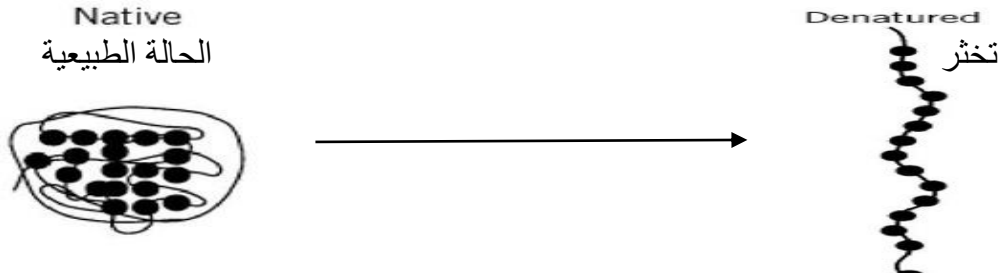
الهدف: التعرف على تأثير أملاح الفضة على طبيعة تركيب البروتينات و نشاطها الحيوي.

التطبيقات:

إيضاح خطورة التسمم بالرصاص وإيضاح إمكانية استخدام البروتينات (الألبومين) كعلاج في حالات التسمم بالزئبق و الرصاص.

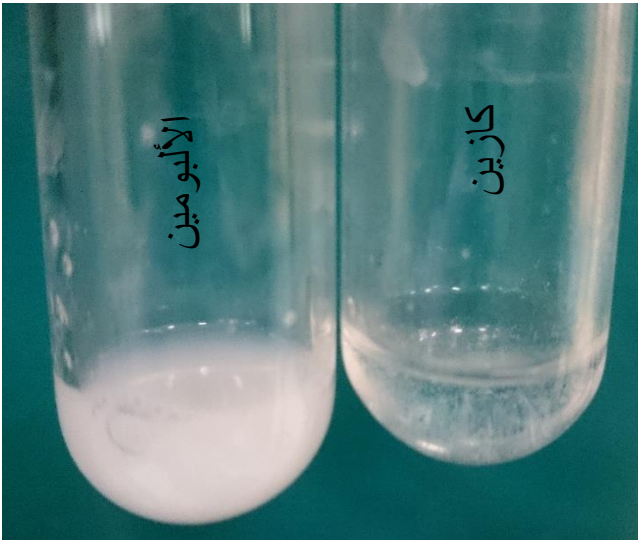
النظرية العلمية للتجربة:

تقوم أملاح المعادن الثقيلة (والتي لها اوزان جزيئية ثقيلة) **بمعادلة شحنة البروتين** وذلك عن طريق ارتباط أيون المعدن (**موجب الشحنة**) بالشححات 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:

الاستنتاج	الملاحظة	الأنبوبة
		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:

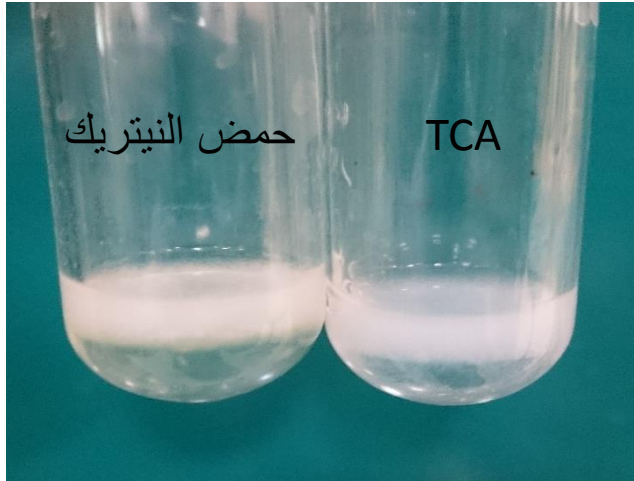
تواجد البروتينات في وسط **حمضي** يكسبها شحنة موجبة فتجذب جزيئات البروتين إلى أيونات الحمض السالبة (NO_3) وتعمل على ترسيبها.

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 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:

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- يتكون محلول بيوريت من

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 الترسيب بالأحماض القوية:

1- لماذا تترسب البروتينات عند إضافة الأحماض قوية لها ؟