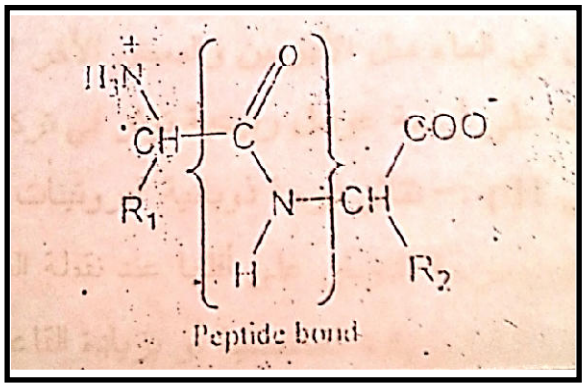
البروتينات Proteins

البروتين هو مركبات عضوية ذات اوزان جزيئية عالية تتكون من عدد كبير من الاحماض الامينية التي ترتبط مع بعضها بواسطة الاواصر الببتيدية ، تتكون البروتينات من عناصر اساسية هي الكربون والنتروجين والاوكسجين والهيدروجين وعناصر اخرى مثل الكبريت والفسفور والحديد ، تشكل البروتينات المكون الاساسي للانسجة الحيوانية والنباتية تركيباً ووظيفة فهي تقوم بتحفيز التفاعلات الكيميائية الحياتية كانزيمات كما تنظم هذه التفاعلات كهرمونات ، اضافة الى ذلك فهي توجد ضمن مكونات جدران الخلايا وكذلك اجزاء الخلايا (النواة ، المايتوكندريا .... الخ) .

لا توجد الاحماض الامينية بكميات متساوية في البروتينات و لا تحوي جميع البروتينات على جميع الاحماض الامينية العشرين .



تصنف البروتينات حسب تركيبها الكيميائي او خواصها الذوبانية الى :

1- البروتينات البسيطة .

2- البروتينات المقترنة .

3- البروتينات المشتقة .

كما ان البروتينات تمتلك اربعة تراكيب بنائية هي :

1- التركيب الاولي Primary Structure:-

و يمثل عدد و تسلسل الاحماض الامينية في السلسلةالببتيدية و تكون المسؤولة عن هذا التركيب الاواصر الببتيدية فقط .

2- التركيب الثانوي Secondary Structure :-

و هو التواء او انطواء السلسلة الببتيدية على امتداد محور واحد (بشكل حلزوني) و الاواصر المسؤولة عن تثبيت هذا التركيب هي الاواصر الهيدروجينية بصورة رئيسية .

3- التركيب الثلاثي Tertiary structure :-

و هو الشكل الذي تكون فيه سلسلة البروتين منطوية بشدة حيث تحصل فيه التفافات البناء الثانوي على اكثر من محور السلسلة المكونة لجزء البروتين و التي تعطي للبروتين الشكل الذي يحدد وظيفته .

4- التركيب الرباعي Quaternary structure :-

و هو عدد وحدات البروتين التي ترتبط مع بعضها لتكوين الصيغة الفعالة للبروتين او هو التركيب الذي تكون فيه سلاسل متعددة الببتيد المنفردة لبروتين قليل القطع مثل الهيموغلوبين متراصة سوية و هذه السلاسل قد تكون متشابهة او مختلفة .

اما اهم الاواصر التي تشترك في تثبيت جزء البروتين فهي :

1- الاواصر الببتيدية .

2- الاواصر الهيدروجينية .

3- الاواصر الكبريتية (ثنائية الكبريت) .

4- التآصر بين المجاميع الكارهة للماء .

5- الاواصر الايونية .

6- قوى فاندرفال .

ذوبانية البروتينات .

تختلف البروتينات من حيث قابلية ذوبانها في المحاليل فهي بصورة عامة قليلة الذوبان في الماء و المذيبات القطبية ولكنها تكون محلول غروي مع الماء الذي له لزوجة خاصة (هناك بعض البروتينات سهل الذوبان في الماء مثل الالبومين و البعض الاخر لا يذوب في الماء مثل الكيراتين) .

تعتمد ذوبانيه البروتينات على اربعة عوامل رئيسية تؤثر في تركيب البروتين و هي :

1- الأس الهيدروجيني PH:-

تتأثر درجة ذوبانه البروتينات كثيراً بقيمة PH نظراً لسلوكها الامفوتيري حيث تكون درجة الذوبان على اقلها عند نقطة التعادل الكهربائي وتزداد كلما كانت في حالة تغير عن هذه النقطة اما بزيادة الحامضية او بزيادة القاعدية وتكون بهيئة ايونات سالبة او موجبة ويستفاد من هذه الخاصية كثيراً في فصل البروتينات التي لها PI مختلفة عن بعضها البعض .

2- الحرارة:-

عملية التسخين تؤدي الى تغيير في الشكل الرباعي و الثلاثي و الثنائي للبروتين (تركيب البروتين) مما تسبب فقدانه لفعالية الحيوية و هذا ما يسمى بالمسخ حيث بحث ترسيب للبروتين من محلول الذائب فيه عند تعرضه للتسخين الشديد .

3- التركيز الايوني:-

عند اضافة محلول متعادل و بتركيز واطئ مثل (0.9%) من ملح الطعام فان قابلية ذوبان البروتين قليل الذوبان تزداد وهذا التأثير يدعى بالتمليح الداخلي (Sulting-in) اما في حالة اضافة تراكيز عالية من الاملاح المتعادلة فأن البروتينات تترسب من محاليلها المائية و هذه الحالة تدعى بالتمليح الخارجي (Sulting – out) .

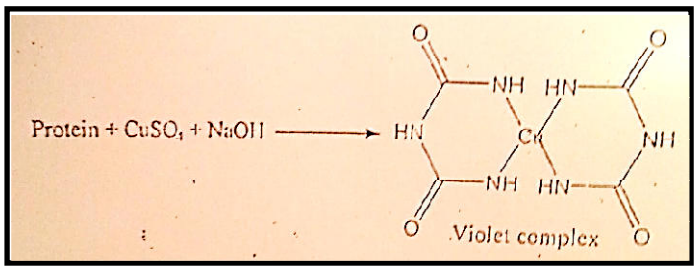
4- شحنة المذيب:-

تترسب البروتينات من محاليلها المانية بإضافة مذيبات لا قطبية مع الماء مثل الكحول و الاسيتون حيث يحدث في هذه الحالة عملية مسح البروتين مما يؤدي الى تكتله و ترسبه .

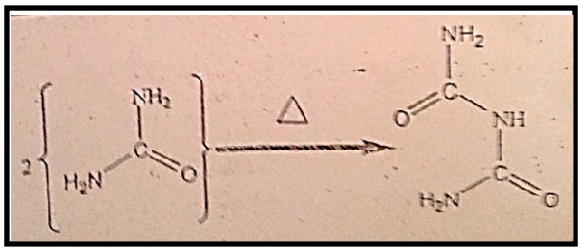
الكشوفات العامة للبروتينات :

1- كشف بايوريت :

هو كشف لجميع البروتينات و الببتيدات التي تتألف من ثلاث احماض امينية او اكثر (اي تحتوي اثنين او اكثر من الاواصر الببتيدية) حيث يتكوم معقد تناسقي بنفسجي اللون بين ايونات النحاس الموجودة ضمن محتويات محلول الكاشف و بين ذرات النيتروجين الموجودة في الاواصر الببتيدية للبروتين .



ثم اشتقاق اسم الكشف من مركب البايرويت الذي يمكن الحصول عليه من تسخين اليوريا حيث ان هذا المركب (البايوريت) له القابلية على تكوين معقد بنفسجي مع مكونات محلول الكاشف (ايونات النحاس) لهذا سمي الاختبار بكشف بايوريت .



طريقةالعمل:

يوضع (1ml) منمحلولالبروتينفيأنبوبةاختبارنظيفةثميضافاليه (0.5Ml) منمحلولالبايوريتالجاهز, يرجالمحلولجيداًويلاحظاللونالمتكون.

تحضيركاشفبايوريت:يذاب3غممنكبريتاتالنحاسالمائيةمع9غممنترتراتالصوديومالبوتاسيومفي 500ملمنمحلول (0.2N NaOH) يضافبعدذلك5غممنيوديدالبوتاسيومويكملالحجمالىواحدلتربواسطةمحلول (0.2N NaOH).

2ـالترسيبباستخدامالحرارة:

للبروتيناتخاصيةالترسيببالحرارةحيثيحصللهاعمليةمسخوتجلط, وانهذاالنوعمنالترسيبهوغيررجوعيأيلايمكناذابةالراسبمرةاخربالتبريد.

المسخDenaturation:-

هيعمليةتغييربالشكلالثلاثيللبروتينوالذييؤديالىفقدانهلوظيفتهالأساسيةوتحدثعمليةالمسخبعدةعواملمنهاالحرارةوالحوامضالقويةوالقواعدالقوية.

طريقةالعمل:

يؤخذ(ml2)منمحلولالبروتينفيأنبوبةاختباروتسخنعلىالنارمباشرةالىتكتلالبروتينويترسب.

3ـالترسيبباستخدامالحوامضالمركزة:

أ.

الترسيبباستعمالكاشفهلر(حامضالنتريك):حيثيؤخذ(ml1)منمحلولالبروتينفيأنبوبةاختبارثميضافلهببطءقطراتمنحامضالنتريكالمركزالىأنيتكونالراسب.هذاالنوعمنالترسيبيكونغيرعيلأنه لايؤثرعلىالشكلالثلاثيللبروتين رجو

ب. الترسيبباستخدامحامضH2SO4وحامضHCL

:نكررنفسالتجربةالسابقةولكنباستخدامحامضH2SO4وحامضHCLهناالترسيبيكونمنالنوعال رجوعي .

4ـالترسيببواسطةأملاحالعناصرالثقيلة (الأيوناتالموجبة):

البروتيناتعادةتكونمشحونةبشحنةسالبةعندPH=/7أوأكثرمنذلك,
عمليةاضافةالفلزاتالتيتحملشحنةموجبة(العناصرالثقيلة)
يؤديالىمعادلةهذهالشحناتوبالتاليجلبالبروتيناتالىنقطةالتعادلالكهربائيوترسيبيا,انالترسيبهذهالطريقةلهأهميةمميزةأذأنهفيحالةالتسممبواسطةاحدىهذهالأملاحفيمكناستخداماالبيضأوالحليبكترياق (antidotc) والذييرسبالفلزالثقيلويحولدونامتصاصهداخلالجسم.

طريقةالعمل

يؤخذ (ML2) منمحلولالبروتينفيانبوبةاختبارنظيفةويضافلهقطراتمنمحلولتركيزه (m0.1) منالعناصرالثقيلة (كبريتاتالنحاس،كلوريدالحديديك،خلاتالرصاص) الىانتكونالراسبفضلهبعدذلكزيادةمحلولالعناصرالثقيلةحيثيلاحظذوبانالراسبمرهثانية (عللذلك) .

5-الترسيببواسطةالكواشفالقلوية (الأحماضالمعقدة):

تعتبرحوامضالتانيكوالبكريكوالتنكستكوالسلفوساليكهيمنأكثرالكواشفالقلويديةالتيتستطيعت رسيبالبروتيناتمنمحاليلها,
هذهالحوامضتحملشحناتسالبةكبيرةوالتيلهاالقابليةعلىمعادلةالشحناتالموجبةللبروتيناتوتكويناملا حغيرذائبة
,
لهذافأنهذهالكواشفتعملبصورةكبيرةعندpHحامضيوالذيتكونفيهالبروتيناتمشحونةبشحنةموجبة
.

طريقةالعمل :

تضافقطراتمنمحلولتركيزه(20%)منالكواشفالقلويةالى
(ml2)منمحلولالبروتينفيأنبوبةاختبارنظيفةالىأنيتكونالراسب,يضافبعدذلكزيادةمنمحلولالكواش فالقلويةوتتمملاحظةماذايحدثللراسب.

6-الترسيببباستخدامالمذيباتالعضوية:

تضافعدةقطراتمنالكحول (الايثانول)الى
(ml2)منمحلولالبروتينفيأنبوبةاختبارنظيفةالىأنيتكونالراسب (الترسيبهناغيررجوعي)

7-الترسيببواسطةالأملاحالمتعادلة (التمليحالخارجيSalting –out):

باستخدامتراكيزعاليةمنالاملاحالمتعادلةتحدثعمليةترسيبللبروتينبسببمزاحمتهاله (أيالبروتين)
علىجزيئاتالماء,قابليةالترسيببالأملاحالمتعادلةتعتمدعلىنوعالملحوتركيزالملحونوعالبروتين,هذ هالطريقةفيترسيبالبروتينلهاأهميةكبيرةخصوصاًفيفصلالبروتيناتفيالتطبيقاتالبيولوجية.

طريقةالعمل:

يضاف(ml1)منكبريتاتالألمنيومالى(ml1)منمحلولالبروتينفيأنبوبةاختبارنظيفةتعادالتجربةمرةثانيةباستخدامكلوريدالصوديوموثالثةباستخدامكبريتاتالمغنسيوموتسجلالنتائجالتييتما لحصولعليها.