

Proteins البروتينات

مقدمة

▶ البروتينات مركبات ذات أوزان جزيئية كبيرة ، تتكون من وحدات من الأحماض الأمينية المترابطة مع بعضها بواسطة رابطة الببتيد .

▶ البروتينات هي المكون الأساسي للخلية الحية ، ومهمة جداً للحياة حيث أنها تدخل في تركيب الإنزيمات والهرمونات كما أن هيموجلوبين خلايا الدم الحمراء ليس إلا بروتيناً مرتبطاً ... وغير ذلك وظائف للبروتينات .

مقدمة

▶ الأحماض الأمينية هي اللبنة الأساسية لبناء جميع البروتينات ، كما تعد مواد أولية لتوليد بعض الهرمونات
Hormones والبيورينات
Purines والبيريميدينات
Pyrimidines والفيتامينات
Vitamines .

▶ إن عدد الأحماض الأمينية التي تبنى منها البروتينات في الطبيعة ٢٠ حمضاً أمينياً تنتج هذه الأحماض الأمينية إما عن التحلل الكامل للبروتين ، أو تُصنَّع بالطرق الكيميائية .

الكشف عن الأحماض الأمينية

▶ لجميع المركبات العضوية اختبارات كشف تعتمد على المجموعة الفعالية لهذه المركبات العضوية وكذلك المجاميع الفعالة الأخرى في السلاسل الجانبية تعطينا مزيداً من المعلومات عن المركبات التي يتم الكشف عنها.

▶ للأحماض الأمينية عدة تفاعلات كشف لكن التفاعل المختبري الذي يستعمل بصورة واسعة للكشف عن هذه الأحماض ، هو تفاعل ننهيدرين ninhydrin .

الكشف عن الأحماض الأمينية

- ▶ يتفاعل الحمض الأميني مع النيهيدرين ويؤدي إلى تكوين ناتج أزرق أو بنفسجي اللون ، ما عدا الحمض الأميني البرولين يتكون ناتج أصفر متميز .
- ▶ البروتينات والمحاليل الأخرى كالكسكريات تعطي نتيجة سالبة مع هذا الاختبار .

تجربة : الكشف عن الأحماض الأمينية (النتهيدرين (Ninhydrin

المواد:

محلول نتهيدرين ٠.١% - محلول ألبومين البيض
(بروتين) ويمكن استعمال أنواع أخرى من الأحماض
الأمينية) - محلول الحمض الأميني برولين ٠.٥%

تجربة : الكشف عن الأحماض الأمينية (النتهيدرين (Ninhydrin

الخطوات :

١. خذ ٣ أنابيب اختبار زجاجية وأضف لها ١ مل من المحاليل التالية - كل على حدة - محلول البيومين البيض (بروتين) ، محلول جلايسين (أو أي حمض أميني) - محلول برولين .
٢. أضف لكل أنبوب ١ مل من محلول نتهيدرين ٠.١% ، دون ملاحظتك والنتيجة لكل أنبوب .

ذوبان البروتينات (solubility of proteins) :

الهدف من الاختبار: اختبار الخاصية القطبية لجزيئات البروتين.

-المذيبات تذيب اشباهها.

- البروتينات الليفية مثل الكيراتينات غير قابلة للذوبان ، بينما البروتينات الكروية 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.

اختبار ذوبانية البروتينات

المواد:

▶ محلول بروتيني (زالال البيض)- محلول حامض الهيدروكلوريك وهيدروكسيد الصوديوم .

▶ طريقة العمل:

▶ اختبار ذوبانية زلال البيض في الماء وفي محلول حامض الهيدروكلوريك وكذلك في محلول هيدروكسيد الصوديوم.

تجربة : الكشف عن البروتينات (البيوريت Biuret)

► مبدأ التجربة :

في اختبار البيوريت Biuret يتم معاملة البروتين بمحلول كبريتات النحاس في وسط قلوي ينتج مركباً بنفسجي اللون . ويشترط وجود رابطتين على الأقل بالجزء لكي يعطي نتيجة إيجابية . هذا الاختبار يعطي نتيجة سالبة مع الكربوهيدرات والدهون والأحماض الأمينية .

تجربة : الكشف عن البروتينات (البيوريت Biuret)

المواد:

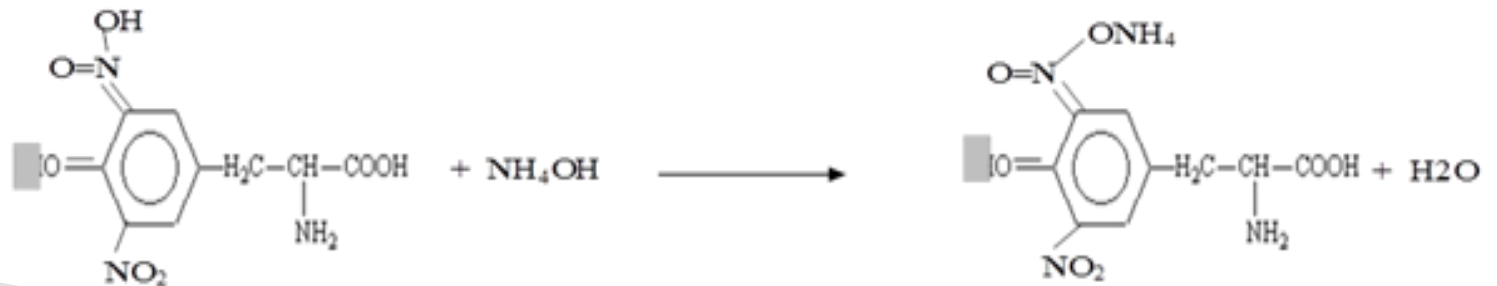
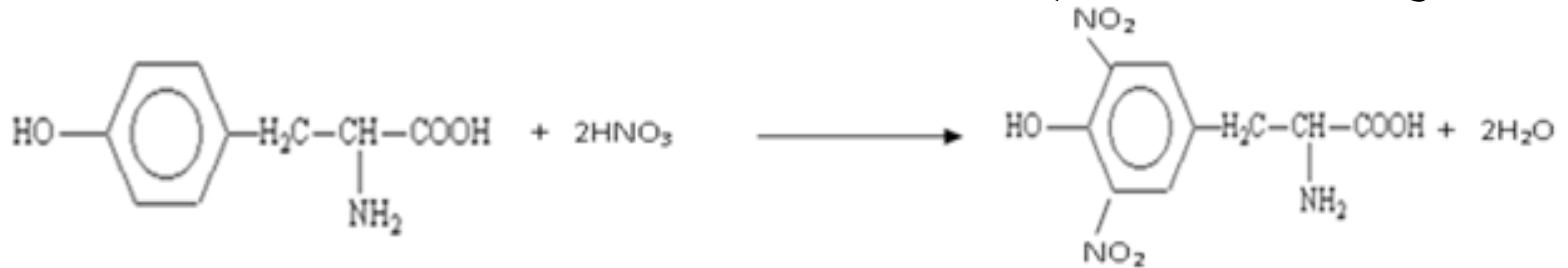
محلول كبريتات النحاس ١% - محلول هيدروكسيد الصوديوم ١٠% - محلول ألبومين البيض (بروتين) -
(ويمكن استعمال أنواع أخرى من الأحماض الأمينية)

طريقة العمل :

١. خذ أنبوبي اختبار زجاجية وأضف لها ٢مل من المحاليل التالية - كل على حدة - محلول ألبومين البيض (بروتين) ، محلول جلایسین (أو أي حمض أميني) .
٢. أضف لكل أنبوب ١ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ١٠% ، رجّ الأنبوبتين جيدا .

تفاعل اكرانثوبروتين (التيروسين)

يستخدم هذا التفاعل للكشف عن الأحماض الأمينية (التيروسين) التي تدخل في تركيب البروتينات عند إضافة حامض النتريك المركز (HNO_3) إلى محلول بروتيني يتشكل مركب زيتي ذو لون أصفر بسبب دخول زمرة النيترو في الحلقة العطرية ، يتحول اللون إلى البرتقالي عند إضافة هيدروكسيد الأمونيوم المركزة وفقا للمعادلات الآتية:



المواد:

حامض نترريك مركز - محلول بروتيني يحوي حلقة عطرية
(تيروسين، تربتوفان) - هيدروكسيد الامونيوم

الخطوات:

أضف إلى حوالي ٢/١ مل من محلول البروتيني حجماً مساوياً من
حامض النترريك المركز.

برد ولاحظ ظهور لون أصفر

اجعل المحلول شديد القلوية بإضافة محلول هيدروكسيد الامونيوم
ولاحظ تحول اللون الأصفر إلى البرتقالي.

▶ تجربة ترسيب البروتين بحمض الكبريت المركز

(كاشف هيلر)

▶ في الوسط شديد الحموضة تتكون شحنات موجبة على البروتين فتتجذب الجزيئات إلى أنيونات الأحماض وتعمل على ترسيبها. عند اضافته حامض معدني مركز الى محلول البروتين يؤدي ذلك الى تغير جوهر البروتين الطبيعي فيترسب نتيجة لذلك ولا يمكن اذابته مره ثانيه

▶ طريقة العمل

▶ يوضع (3ml) من حامض الكبريت المركز في انبويه اختبار ويضاف بحذر وعلى جار الانبويه الداخلي حجم مساوي من محلول زلال البيض حيث يلاحظ الحلقة البيضاء (من راسب البروتين) المتكونه بين طبقتي المحلول .