كلية العلوم

القسم :**الكيمياء**

السنة : **الثالثة**

المادة : كيمياء حيوية

المحاضرة : الثانية /**عملي**/

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر(What's app-Telegram)على الرقم 0931497960

# ترسيب البروتينات

**( ٤ ) الترسيب بواسطة أملاح المعادن الثقيلة :**

**المبدأ :** تؤدي اضافة أملاح المعادن الثقيلة ( كأملاح الرصاص والنحاس والزئبق والفضة والتوتياء وغيرها من المعادن الثقيلة ) الى ترسيب البروتينات في محاليلها . وتعد عملية الترسيب هذه من التفاعلات اللاعكوسية المؤدية الى تشويه البنية الفراغية الفعالة للبروتين وبالتالي اختفاء فعاليته البيولوجية . ويعتمد ذلك على عدة عوامل أهمها درجة حموضة المحلول . ففي الوسط القلوي عموما تحمل البروتينات شحنات سالبة وبذلك تؤدي اضافة تلك الشوارد الثقيلة موجبة الشحنة الى تعديل شحنة البروتين وبالتالي الى ترسبه لانعدام التنافر بين الجزيئات البروتينية المتجاورة. والبروتين المترسب في هذه الحالة يكون مصحوبا بتغيرات ( أو تشوهات ) في التركيب الطبيعي للبروتين أي في التركيب الثانوي والثالثي .

تختلف البروتينات في تفاعلها مع أملاح المعادن الثقيلة نظرا لاختلافها هي من حيث تركيبها في المحاليل ودرجة تميهها أي درجة وجود الغشاء المائي حول جزيئاتها. وعلى الرغم من أن ترسيب ايونات المعادن الثقيلة للبروتينات يفسر بمعادلتها للشحنات

الكهربائية التي يحملها البروتين فان هذا التفسير ليس كافيا في كل الحالات . يذوب الراسب المتشكل أحيانا بزيادة تركيز العامل المرسب ( كالنحاس والرصاص ) ولكنه لا يذوب بزيادة تركيز بعض الايونات المرسبة الاخرى كالفضة والزئبق ، وربما يعود ذلك الى تشكل معقدات تساندية ذوابة مع شوارد النحاس والرصاص. هذا وتستعمل تفاعلات ترسيب البروتينات بوساطة شوارد المعادن الثقيلة في الاسعافات الاولية عند التسمم بهذه الاملاح من أجل ازالة سميتها وذلك باعطاء المصاب كميات كبيرة من بروتينات البيض أو الحليب .

**المحاليل المستخدمة :**

١ ـ محلول بروتين بياض البيض ١ ٪ .

٢ ـ محلول كبريتات النحاس ٥ ٪ .

٣ ـ محلول خلات الرصاص ٢ ٪ .

٤ ـ محلول نترات الفضة ٢ ٪ .

٥ ـ محلول كلور الزئبق ٢ ٪ .

**طريقة العمل :**

ضع الاضافات المذكورة في كل أنبوب وفق الجدول التالي :

| الاضافات سم٣ | رقم الانبوب ١ | ٢ | ٣ | ٤ | ٥ |
|---|---|---|---|---|---|
| ـ بياض البيض | ٢ | ٢ | ٢ | ٢ | ٢ |
| ـ كبريتات النحاس ( قطرات ) | ٣ | ـ | ـ | ـ | ـ |
| ـ خلات الرصاص | ـ | ٣ | ـ | ـ | ـ |
| ـ نترات الفضة | ـ | ـ | ٣ | ـ | ـ |
| ـ كلور الزئبق | ـ | ـ | ـ | ٣ | ـ |
| ـ ماء | ـ | ـ | ـ | ـ | ٢ |

وبعد ظهور الراسب في الانابيب الاربعة الاولى أضف الى كل منها زيادة من محاليل الاملاح المذكورة ولاحظ انحلال الراسب واختفاء العكارة في الانبوبين الاولين وعدم انحلاله في الانبوبين الثالث والرابع الحاويين على نترات الفضة وكلور الزئبق.

**( ٥ ) الترسيب بواسطة الحرارة :**

**المبدأ :** تزداد درجة انحلالية البروتينات في المحاليل المائية مع ازدياد درجة الحرارة ضمن مجال محدد وثابت . هذا المجال يقع بين ٠° و ٤٠م ( باستثناء بعض البروتينات التي تشذ عن هذه القاعدة ) . وبدءا من الدرجة ٤٠م تصبح أغلب البروتينات غير ثابتة الى حد كبير وتبدأ بالتشوه مع انخفاض الانحلالية بشكل عام عند درجة الحموضة المعتدلة . ولذلك فان طرائق تجزئة البروتينات تتم بشكل عام على درجات حرارة محصورة بين صفر الى ٤٠م أو عند درجات حرارة أخفض للمحافظة على فعاليتها البيولوجية . ومع ذلك فانه توجد بعض الاستثناءات حيث أن بعض البروتينات تكون أكثر ثباتا ويكون لها انحلالية أعظمية في درجة حرارة المختبر أو في درجة حرارة وسطها الخلوي العادي . ان أغلب الجزيئات البروتينية لا تحتفظ بفعاليتها البيولوجية الا ضمن حدود ضيقة من درجات الحرارة كما أشرنا أعلاه . وتعريض الجزيئات البروتينية الى درجات حرارة مرتفعة أو الى العوامل الاخرى التي ذكرناها سابقا يسبب تبدلا في البنية الاصلية للبروتين يطلق عليه اسم التشوه أو التخريب ( Denaturation ) والذي ينعكس سلبا على انحلالية البروتينات الكروية . هذا وان أغلب البروتينات تتخرب عندما تسخن الى ما فوق ٥٠ ـ ٦٠م كما أن البعض منها يتخرب عندما يبرد الى ما دون ١٠ ـ ١٥م . ان تشكل خثارة بيضاء غير ذوابة أثناء تسخين بياض البيض يعتبر مثالا واضحا ومعبرا عن التخريب بواسطة الحرارة . والتخريب الحراري للبروتينات يكون على الاغلب لا عكوسيا ، ويشذ عن هذه القاعدة بعض البروتينات التي تبدي حالة التخريب الحراري العكوسي. وأهم مثال لهذه البروتينات نذكر أنزيم الريبونيوكلياز Ribonuclease الذي يفقد فعاليته بالتسخين والذي يستعيدها بشكل سريع بعد التبريد . وقد تبين للمختصين في هذا المجال أن أنزيم الريبونيوكلياز يتحمل درجة حرارة تصل الى

٩٠م . هذا وان اضافة الركيزة الى أنزيم وهو ذو طبيعة بروتينية ، ترفع من درجة تحمله للحرارة بـ ١٠م عن المعتاد قبل أن يتشوه .

لا تؤثر الحرارة على البنية الاولية ( الابتدائية ) للبروتينات ولكنها تعمل على تخريب البنية الثانوية والثالثية لها . وتتعلق سرعة التخريب الحراري ( الترسيب الحراري ) للبروتينات بدرجة حموضة الوسط وبوجود المركبات المتشردة فيه . فعملية تخثر الجزيئات البروتينية تجري بسرعة وبدرجة عالية عند نقطة تعادلها الكهربائي . أما في حالة انزياح درجة حموضة الوسط عن نقطة التعادل الكهربائي سواء الى الجانب الحمضي أم الى الجانب القلوي فان ذلك يؤدي الى اعاقة ترسيب البروتينات . أما في الاوساط الحمضية والقلوية القوية ( درجات الحموضة المتطرفة ) فان ترسيب البروتينات لا يتم من الناحية العملية . فعند اضافة الحموض تكون جزيئات البروتينات مشحونة ايجابيا ، وعند اضافة القلويات تكون مشحونة سلبيا . الا أن اضافة بعض المركبات المتشردة ( ككلور الصوديوم ) تسرع وتسهل عملية ترسيب البروتينات حتى في الاوساط الحمضية . ويمكن تفسير ذلك من خلال معادلة الشحنات الكهربائية للجزيئات البروتينية ونزع التميه والتقاء الدقائق الفروية البروتينية المشوهة وترسبها .

**المواد والمحاليل :**

١ ــ محلول بروتين بياض البيض ١٪ .
٢ ــ محلول حمض الخل ١٪ .
٣ ــ محلول حمض الخل ١٥٪ .
٤ ــ محلول ماءات الصوديوم ١٠٪ .
٥ ــ محلول ملح كلور الصوديوم المشبع .

**طريقة العمل :**

خذ خمسة أنابيب اختبار جافة ونظيفة ورقمها ، ثم ضع في كل منها ( ١ ) سم٣ من المحلول البروتين ، وقم بتنفيذ الخطوات التالية :

١ ــ سخن الانبوب الاول حتى الغليان ولاحظ تعكر المحلول البروتيني ، لكن دون أن يترسب على شكل راسب .

٢ ــ أضف الى بروتين الانبوب الثاني قطرة أو قطرتين فقط من محلول حمض الخل ١٪ وسخن حتى الغليان ولاحظ ترسب البروتين بسرعة في قعر الانبوب وذلك لان جزيئة البروتين تكون في هذه الحالة معتدلة كهربائيا تقريبا ودرجة حموضة المحلول البروتيني تكون قريبة من نقطة التعادل الكهربائي للبروتين .

٣ ــ أضف الى الانبوب الثالث عدة قطرات ( ٥ ــ ١٠ ) من محلول حمض الخل ١٥٪ وسخن حتى الغليان ولاحظ عدم تشكل راسب وذلك لان جزيئة البروتين تملك في هذه الحالة عددا كبيرا من الشحنات الموجبة مما يعيق عملية الترسيب .

٤ ــ أضف الى الانبوب الرابع عدة قطرات ٥ ــ ١٠ من محلول ماءات الصوديوم ١٠٪ وسخن حتى الغليان ولاحظ أيضا عدم ظهور راسب وذلك لان جزيئة البروتين تكون في هذه الحالة أيضا مشحونة بعدد كبير من الشحنات السالبة مما يعيق بالتالي عملية ترسيب البروتين .

٥ ــ أضف الى الانبوب الخامس عدة قطرات ٤ ــ ٥ من محلول حمض الخل ١٥٪ وبضع قطرات ٦ ــ ٨ من محلول كلور الصوديوم المشبع وسخن حتى الغليان ولاحظ تشكل راسب بسرعة . فسر ذلك .

**ملاحظة :** من الناحية العملية يستخدم الترسيب الحراري للبروتينات من أجل فصل مزيج من البروتينات عن بعضها بعضا وذلك لان جزيئات المزيج البروتيني المختلفة لا تترسب جميعها عند الدرجة نفسها من الحرارة .

## ٦ ــ ٣ ــ الطبيعة المترددة للبروتينات : Amphoteric nature of proteins

**المبدأ :** تحتوي البروتينات على شحنات موجبة وسالبة نتيجة لوجود المجموعات الكربوكسيلية والامينية الاضافية على جذور بعض الحموض الامينية الداخلة في