الحموض الأمينية والبروتينات

أولا : الحموض الأمينية :

تحمل نوعين من الجذور الكيميائية ؛ جذر أميني NH2– وجذر كربوكسيلي COOH– متحدين مع ذرة كربون مرتبطة بدورها بسلسلة عضوية جانبية R- بحيث تملك الصيغة العامة التالية:

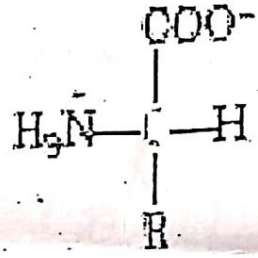


FIGURE 3-2 General structure of an amino acid. This structure is common to all but one of the α-amino acids. (Proline, a cyclic amino acid, is the exception.) The R group or side chain (red) attached to the α carbon (blue) is different in each amino acid.

تختلف الحموض الأمينية عن بعضها البعض باختلاف الجذر R– ؛ويوجد في الطبيعة 20 حمض أميني يدخل في تركيب البروتينات ؛ كما أنها تصنف في مجموعات حسب الزمر الوظيفية (راجع الصفحة التالية)

هذا وتعتبر الحموض الأمينية النواتج النهائية لهضم البروتينات وتنتقل بسرعة من خلال جدران الأمعاء وتقوم بعدة وظائف داخل الجسم من أهمها :

1- تصنيع نسيج بروتيني جديد أوترميم نسيج بروتني قديم .
2- تخل محل بروتينات سوائل الجسم المتحطمة .
3- تصنيع مركبات غير بروتينية تحتوي على نيتروجين مثل الحموض النووية ، الكرياتينين .
4- توفير الطاقة الكيميائية من خلال دورة اليوريا أو تصنيع الغلوكوز والأحماض الدسمة التي تختزن في النسيج الدهني .

ترتبط الحموض الأمينية مع بعضها البعض بواسطة روابط خاصة تدعى بالروابط الببتيدية التي تتشكل نتيجة تفاعل الوظيفة الكربوكسيلية (COOH -) للحمض الاميني الأول مع الوظيفة الأمينية (NH2-) لحمض أميني التالي مع نزع جزيئة ماء حسب التفاعل التالي :

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

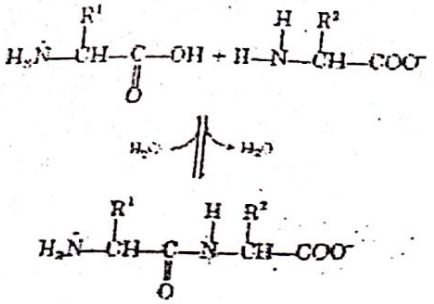
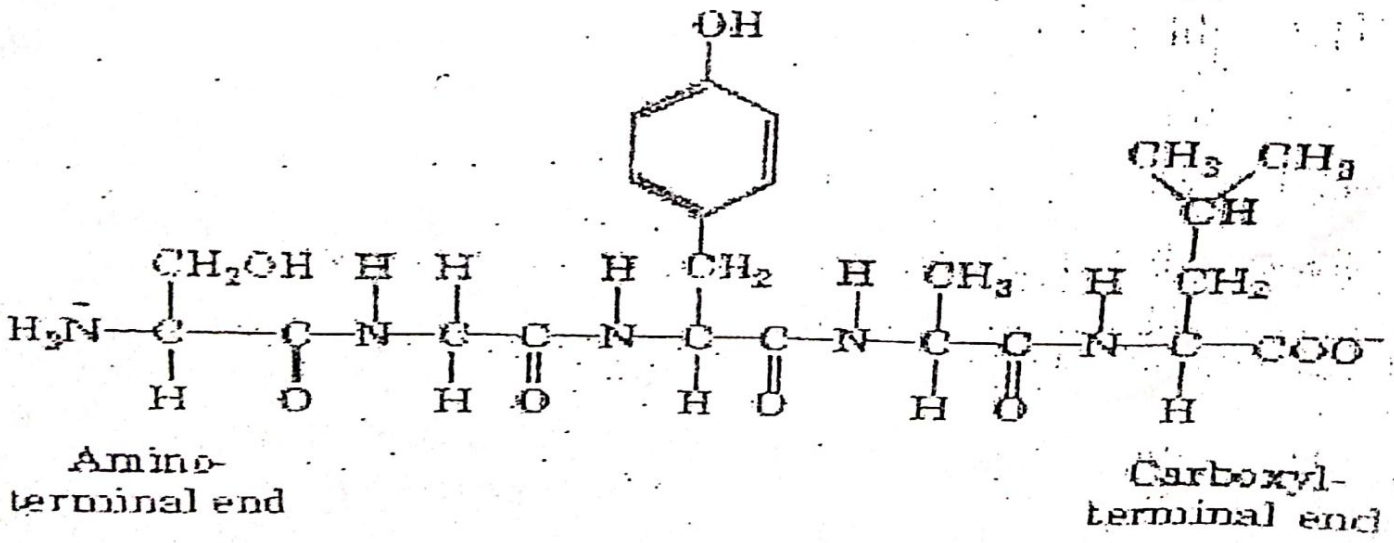


FIGURE 3-13 Formation of a peptide bond by condensation. The α-amino group of one amino acid with R^2 group acts as a nucleophile to displace the hydroxyl group of another amino acid with R^1 group, forming a peptide bond (shaded in yellow). Amino groups are good nucleophiles, but the hydroxyl group is a poor leaving group and is not readily displaced. At physiological pH, the reaction shown does not occur to any appreciable extent.

عند تتالي ارتباط الحموض الأمينية ببعضها تتشكل مركبات تدعى بالببتيدات بحيث أن:الببتيدات البسيطة تضم
1 – 10 حموض أمينية أما كثيرا البتتيد فتضم 10 – 150 حمض أميني .



الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

ثانيا : البروتينات :

وهي مركبات عضوية ذات وزن جزيئ مرتفع حيث تقوم بدور هام في اظهار النشاط الحيوي للخلايا والنسج ، هذا وتوجد البروتينات في جميع الكائنات الحية. أما الوظيفية البيولوجية للبروتينات فتتلخص بأنها تقوم بانجاز نمو وتطور الخلايا – التكاثر – نقل الصفات الوراثية - الوساطة الأنزيمية – المضادات الجسدية – التقلص العضلي – وغيرها من الوظائف في العضوية الحية .

تقسم البروتينات الموجودة في الطبيعة إلى نوعين :

1- بروتينات بسيطة تعطي عند حلمهتها حموض أمينية فقط مثال :(ألبيومين ، كيراتين ، كولاجين)

2- بروتينات معقدة تعطي عند حلمهتها حموض أمينية ومركبات أخرى غير بروتينية مثال :(كازنين ، الميوغلوبين ،الرودوبسين)

هذا وتصنف البروتينات تبعا لوظائفها البيولوجية إلى :

1- الأنزيمات (سايتوكروم ، تريبسين)
2- بروتينات الخزن (ألبيومين ، فيرتين)
3 - بروتينات النقل (هيموغلوبين ،مايوكلوبين)
4 - بروتينات الحماية (فايبرينوجين ، ثرومبين)
5 - الهرمونات (الأنسولين ، هرمون النمو)
6 - السموم (سم الدفتريا ، سم الأفعى)
7 - بروتينات الإنقباض والانبساط (مايوسين ، أكتين)
8 - البروتينات التركيبية (ألفاكيراتين ، كولاجين ،ميكوبروتين)

تصنيف الحموض الأمينية

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الجذر R–	
1- الحموض الأمينية الأليفاتية :	
H --	غلايسين
CH3 --	ألانين
(CH3)2 CH --	فالين
(CH3)2 CH -- CH2	ليوسين
C2H5 --CH(CH3) --	إيزوليوسين
2- الحموض الأمينية الهيدروكسيلية :	
CH2OH --	سيرين
CH3 -- CHOH --	ثيرونين
3- الحموض الأمينية الكبريتية :	
HSCH2 --	سيستئين
CH3 -- S -- (CH2)2 --	ميثونين
4- الحموض ثنائية الزمرة الكربوكسيلية :	
HOOC --CH2 --	حمض الأسبارتيك
HOOC --CH2 -- CH2 --	حمض الغلوتاميك

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

5- الحموض ثنائية الزمرة الأمينية :

لايسين H2N(CH2)4 --

أورنيثين H2N(CH2)3 --

أرجينين H2N
C -- NH -- (CH2)3 --
HN

6- الحموض الأمينية الحلقية المتجانسة :

فينيل ألانين

تيروزين

7- الحموض الأمينية الحلقية غير المتجانسة :

تريبتوفان

هيستيدين

8- الحموض الإيمينية :

برولين

هيدروكسي برولين

▪ الإختبارات الكيفية للحموض الأمينية والبروتينات ▪

تفاعل كربونات النحاس:

هو تفاعل ايجابي مع جميع الحموض الأمينية الحرة وسلبي مع البروتينات

•مبدأ التفاعل:

تتفاعل الزمرة الحرة(الكربوكسيلية والأمينية) للحموض الأمينية مع شاردة النحاس في كربونات النحاس معطية معقد ذو لون أزرق غامق .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

◆طريقة عمل تفاعل كربونات النحاس :

يؤخذ أنبوبي اختبار يوضع في الأول (2 مل) من محلول البروتين وفي الثاني(2 مل) من محلول حمض أميني يضاف بضع ذرات من مسحوق كبريتات النحاس ويسخن الأنبوبان حتى الغليان لمدة بضع دقائق يلاحظ تشكل لون أزرق غامق في أنبوب الحمض الأميني.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

تفاعل النينهدرين :

هو تفاعل خاص بالزمرة الأمينية NH_2– في الموقع ألفا وبالتالي فهو عام وايجابي مع جميع الحموض الأمينية والبروتينات أيضا . (تفاعل حساس ودقيق للكشف عن وجود الزمرة الأمينية)

◆مبدأ التفاعل :

تتعرض الحموض الأمينية لتفاعل أكسدة عند تفاعلها مع النينهدرين يتم فيه نزع الزمرة الأمينية والزمرة الكربوكسيلية وينتج النينهدرين المرجع الذي يتفاعل مع جزيئة نينهدرين جديدة ليعطي معقد ذو لون أزرق بنفسجي .

◆الكواشف المستخدمة:

- محلول بروتيني .
- محلول الحموض الأمينية .
- كاشف النينهدرين .

◆طريقة عمل تفاعل النينهدرين :

يؤخذ أنبوبي اختبار يوضع في الأول (2 مل) من محلول البروتين وفي الثاني(2 مل) من محلول حمض أميني ثم يضاف الى كل من الإنبوبين 10 نقاط من محلول النينهدرين نمزج ثم نسخن مدة دقيقتين فنلاحظ ظهور اللون الأزرق البنفسجي في كلا الانبوبين (يتأخر ظهور اللون في الانبوب الحاوي على البروتين)

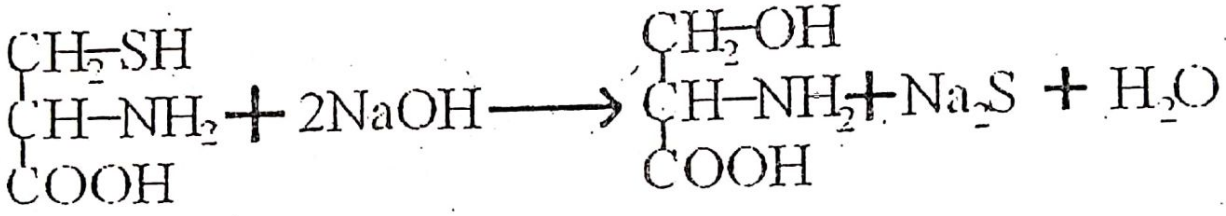
الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

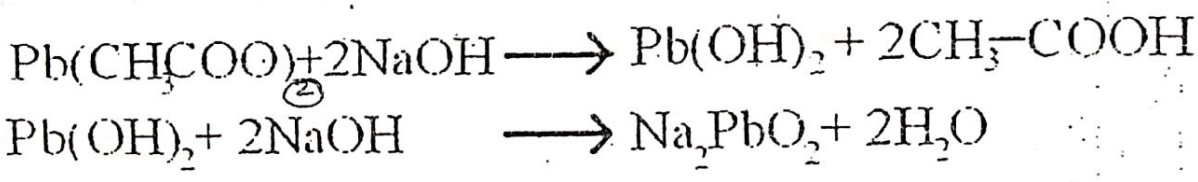
تفاعل الكشف عن الحموض الأمينية الحاوية على الكبريت(فولن) :

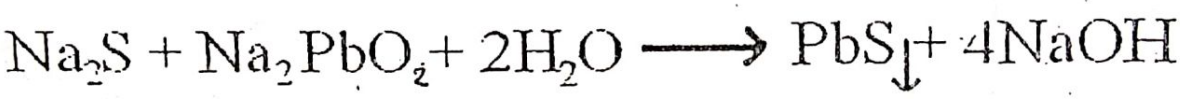
يكون هذا التفاعل ايجابيا مع السيستئين والميثيونين سواء أكانت حرة أو ضمن الجزيئات البروتينية .

*مبدأ التفاعل:

إن إضافة ماءات الصوديوم الى الأحماض الأمينية الكبريتية يؤدي الى انفصال الكبريت عن الحمض الأميني وتشكل كبريتيد الصوديوم الذي يعطي مع خلات الرصاص راسبا أسود هو كبريتيد الرصاص.







الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

- الكواشف المستخدمة:
  - خلات الرصاص.
  - محلول سيستئين.
  - ماءات الصوديوم20%.
- طريقة العمل:

يؤخذ (5مل) من محلول السيستئين ويضاف إليه(2مل) من محلول ماءات الصوديوم (20%) يسخن حتى الغليان لمدة ثلاث دقائق ثم يضاف يضع قطرات من خلات الرصاص فيتشكل راسب أسمر أو أسود .

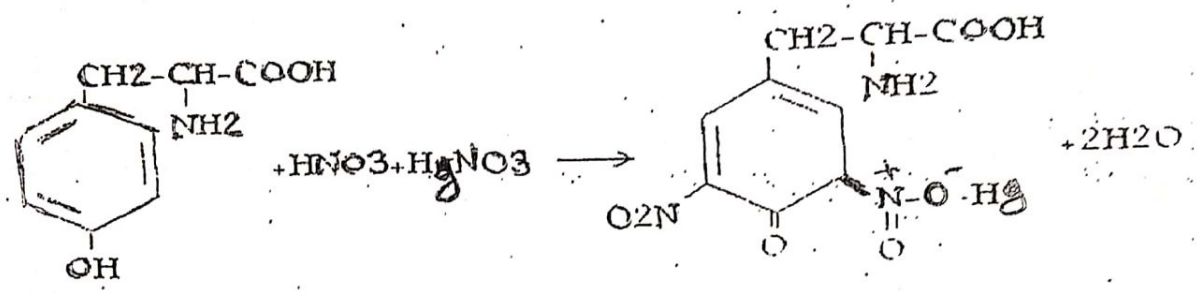
الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

تفاعل ميلون:

هو تفاعل ايجابي مع الحمض الأميني التيروزين ومع جميع البروتينات الحاوية على هذا الحمض الأميني.

◆مبدأالتفاعل:

تتفاعل المركبات الحاوية على جذر هيدروكسي بنزن مع الزئبق الموجود في كاشف ميلون فينتج معقد ذو لون أحمر قرميدي ، ومن هذه المركبات الحمض الأميني تيروزين ، وهو الوحيد من الأحماض الأمينية الحاوي على حلقة هيدروكسي بنزن ، لذلك يعطي نتيجة ايجابية مع كاشف ميلون.حيث تتم نترجة الحلقة البنزينية ويتشكل ثنائي نترو التيروزين وفقا للتفاعل التالي

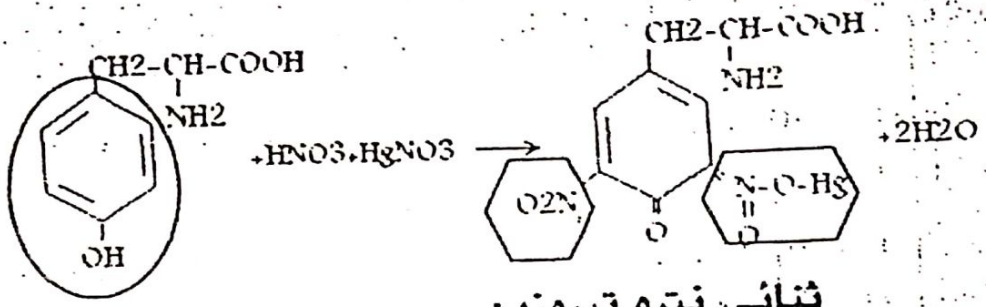


◆

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

اختبار ميلون

Millon's test



ثنائي نترو تيروزين

الكواشف المستخدمة:

- محاليل أحماض أمينية (تيروزين ، فينيل ألانين).
- كاشف ميلون(حمض الازوت الكثيف مع نترات الزئبق)

•طريقة عمل تفاعل ميلون:

يؤخذ (2مل) من المحلول المراد اختباره ويضاف إليها (1مل) من كاشف ميلون ويسخن على النار مع الحذر الشديد حتى الغليان فيلاحظ ظهور لون أحمر قرميدي.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

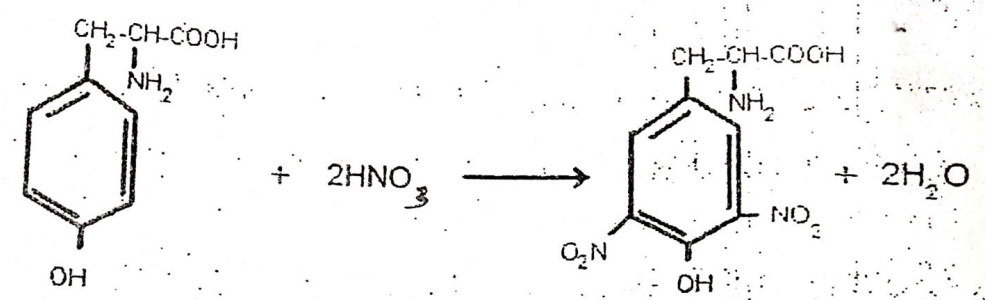
تفاعل الكسانتوبروتين:

هو تفاعل ايجابي لكشف وجود الحلقات العطرية في الحموض الأمينية سواء أكانت حرة أو موجودة ضمن جزيئة بروتينية.

◆مبدأ التفاعل:

يؤثر حمض الأزوت المركز على الأحماض الأمينية الحاوية على حلقة عطرية(التيروزين، التربتوفان، الفينيل ألانين) ويؤدي إلى نترجتها ويساعد في ذلك عملية التسخين، تتفاعل مشتقات النترو كثنائي نترو التيروزين مع هيدروكسيد الصوديوم لتعطي مركبات ذات لون أصفر تدل على وجود التيروزين أو التربتوفان أو البروتينات الحاوية على هذه الأحماض.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner



التيروسين

ثنائي نترو التيروسين

• الكواشف المستخدمة:

- حمض الازوت الكثيف .
- ماءات الأمونيوم 20% أو ماءات الصوديوم 20%

• طريقة العمل:

يؤخذ في أنبوب (1 مل) من محلول الحمض الأميني المراد اختباره أو (2مل) من البروتين (بياض البيض) ثم يضاف حوالي (½مل) من حمض الآزوت الكثيف يمزج ثم يسخن بحذر على النار حتى الغليان فيبدو لون أو راسب أصفر ، يضاف بعد التبريد بحذر حوالي (½مل) من ماءات الصوديوم أو ماءات الأمونيوم فيصبح اللون برتقالي .

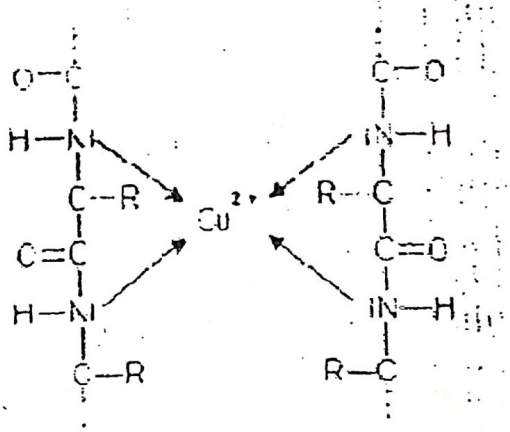
الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

◆ أختبار البيوريت (البولة المضاعفة) :

تتفاعل كبريتات النحاس في الأوساط القلوية مع المركبات الحاوية على رابطتين ببتيديتين أو أكثر لتعطي معقد ملحي ناتج عن تفاعل أيون النحاس مع السلسة الببتيدية ذو لون بنفسجي، وأتت تسمية هذا المركب من تسخين البولة وتكاثف جزيئتين منها :

اختبار البيوريت

Biuret test



Biuret complex

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

البيوريت

الكواشف المستخدمة :

- محاليل بروتينية (ألبومين ، كازئين ، جيلاتين ، ببتون) .
- محلول NAOH 20%
- محلول كبريتات النحاس 1%

•طريقة العمل :

يوضع في أنبوب الاختبار 2 ml من المحلول البروتيني ويضاف له عدة نقاط من ماءات الصوديوم وخمس قطرات من محلول كبريتات النحاس ويمزج جيدا ويلاحظ تشكل اللون البنفسجي، وتعاد نفس التجربة باستخدام أحد الحموض الأمينية ونلاحظ اللون المتشكل .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

ترسيب البروتينات

خلال عملية ترسيب البروتينات يحدث تغييرات في الشكل الفراغي للجزيئات البروتينية وبشكل خاص البنية الثانوية والثالثية بينما لا تتعرض البنية الأولية لأي تغيير .

إن تفاعلات الترسيب تكون إما عكوسة أو غير عكوسة .

أولا : الترسيب العكوس :

يحافظ البروتين على فعاليته البيولوجية ولا تتعرض الجزيئات البروتينية إلى تغييرات كبيرة وبالتالي فإن الراسب المتشكل يمكن أن ينحل بالماء مرة أخرى .

- ترسيب البروتين بواسطة أملاح المعادن القلوية والقلوية الترابية (تمليح البروتين).

أهم الأملاح المستخدمة : $(NH_4)_2So_4$ ، $MgSo_4$ ، NaCl

- ترسيب البروتين بواسطة المحلات العضوية (الكحول/ الايتر/الاسيتون)

① الترسيب بواسطة أملاح المعادن القلوية :

حيث تقوم أملاح المعادن القلوية بتعديل شحن الجزيئات البروتينية مما يؤدي الى سقوطها على شكل راسب (يمكن للراسب المتشكل أن ينحل مرة أخرى بالماء) .

◆طريقة العمل: تضع في أنبوب اختبار(2 مل) من المحلول البروتيني ونضيف لها 2 مل من كبريتات الأمونيوم المشبعة ، نترك الانبوب على الحامل فتلاحظ تشكل راسب من الغلوبولينات ، بينما تترسب الألبومينات في محلول مشبع من كبريتات الأمونيوم.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

② الترسيب بواسطة المحلات العضوية :

حيث يقوم الايثانول بسحب الماء من الجزيئات البروتينية مما يؤدي الى انخفاض ثباتية البروتينات في المحلول وسقوطها على شكل راسب (عملية الترسيب هذه عكوسة) .

•طريقة العمل: نضع في أنبوب اختبار (2 مل) من المحلول البروتيني ويضاف لها قليلا من NaCl ويخض جيدا حتى الذوبان ،ثم نضيف(4_6 مل) من الايثانول عن طريق التنقيط ثم نخض الأنبوب بقوة ويترك في حالة هدوء ونلاحظ تشكل الراسب بعد (5 – 6) دقيقة .

ثانيا:الترسيب اللاعكوس:

يحدث تغيرات كبيرة على البيئة الفراغية للجزيئات البروتينية مما يؤدي الى تغيرات في خواص البروتين بعد الترسيب.

أمثلة:

1- الترسيب بواسطة الحموض العضوية (حمض الصفصاف- ثلاثي كلور حمض الخل)

2- الترسيب بواسطة الحموض المعدنية المركزة($HCl-H_2So_4-HNo_3$)

3- الترسيب بواسطة أملاح المعادن الثقيلة (أملاح الرصاص- النحاس- الحديد- الفضة)

4- الحرارة المرتفعة-الطرق-السحب-الضغط العالي-الأشعة النووية

① الترسيب بواسطة الحموض العضوية " ثلاثي كلور حمض الخل (لأسيتيك) (CCl_3COOH):

تستطيع الأحماض العضوية ثلاثي كلور حمض الخل (الأسيتيك) من ترسيب البروتينات نظرا لأن هذه الأحماض تحمل شحنات سالبة تستطيع معادلة البروتينات الموجبة ، لذلك ترسب جزيئات البروتين ، يستطيع حمض ثلاثي كلور الأسيتيك ترسيب البروتينات فقط ، ولا يرسب الببتونات.

•طريقة العمل: يؤخذ أنبوب اختبار نضع فيه (2مل) من المحلول البروتيني ثم نضيف(5_8 نقاط) من حمض ثلاثي كلور الأسيتيك ونلاحظ تشكل الراسب(غير عكوس) .

② الترسيب بواسطة الحموض المعدنية:"حمض الازوت الكثيف"

تقوم الحموض المعدنية الكثيفة بنزع قوي للماء المحيط بالجزيئات البروتينية وبالتالي تعديل شحنته ومنه تشكيل مركبات معقدة مع البروتينات وبالتالي تشكيل راسب غير منحل بالماء.

•طريقة العمل: نضع في أنبوب (2 مل) من المحلول البروتيني ثم نضيف له تدريجيا(1 مل) من حمض الآزوت الكثيف ونلاحظ تشكل حلقة بيضاء في الأنبوب عند السطح الفاصل بين السائلين.

(تستعمل هذه الطريقة للكشف السريع عن البروتين في البول)

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

③ الترسيب بواسطة املاح المعادن الثقيلة (خلات الرصاص- كبريتات النحاس - كلور الحديد)

تقوم أملاح المعادن الثقيلة بإحداث تشوهات كبيرة في البنية الثانوية والثالثية للسلاسل البروتينية وتفكيك الروابط العاملة على تثبيت هذه البنيات ولاسيما الروابط ثنائية الكبريت وبالتالي تشكيل رواسب بروتينية غير عكوسة .

•طريقة العمل : (2 مل) من المحلول البروتيني ثم نضيف لها خلات الرصاص بالتنقيط حتى ظهور الراسب .

(تستعمل طريقة ترسيب البروتينات بواسطة شوارد المعادن الثقيلة في الإسعافات الأولية عند التسمم بهذه الأملاح وذلك بإعطاء المصاب كمية كبيرة من بروتينات الحليب)

①الترسيب بواسطة التخريب الحراري :

تتعرض معظم للتخثر والتخريب في درجات الحرارة العالية بحيث تحدث تغيرات غير عكوسة على الخواص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية للبروتينات .

هذا وتتعلق سرعة ودرجة التخريب الحراري بدرجة PH المحلول وبوجود مركبات متشردة فيه .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner