جامعة تكريت

كلية التربية للبنات

قسم الكيمياء

الكيمياء الحياتية عملي

المرحلة الثالثة

محاضرة

{تفاعلات ترسيب البروتينات}

مدرس المادة

م.م. ايات جاسم محمد

ayat.mohammed@tu.edu.iq

تفاعلات ترسيب البروتينات

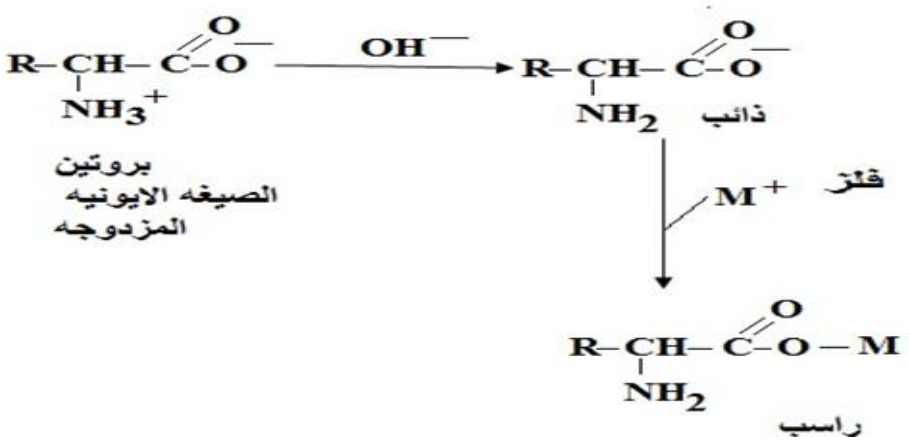
البروتينات التي تمثل محاليل من النوع المحب للماء (hydrophilic) تكون مستقرة في محاليلها و تعتمد قابلية ذوبانها على عاملين اساسين هما عامل الشحنة و عامل المذيب و هكذا فان ازالة احد هذه العوامل الاستقرار او كليهما هذه تؤدي الى ترسيب البروتين.

حيث ان نقطة التعادل الكهربائي **Iso Electric Point (IEP)** درجة pH التي تكون فيها محصلة الشحنات لجزيئة البروتين صفرا ، لذا فهي لا تستطيع الاتحاد مع الحوامض و القواعد عند نقطة تعادلها الكهربائي لكونها متعادلة كهربائيا . و لكنها في درجة pH اقل او اكثر من IEP تستطيع ان تتحد مع الايونات المعاكسة لها بالشحنة مكونة املاح غير ذائبة. فإذا اريد ترسيب البروتينات بالحوامض فيلاحظ استخدام حامض ثلاثي كلورو حامض الخليك TCA أو حامض البكريك او حامض التنكستيك بدلا من حامض الهيدروكلوريك لكون هذه الحوامض اقل ذوبانا بكثير مع البروتينات. و هكذا الحال بالنسبة لترسيب بالقواعد الفلزية حيث يستخدم هيدروكسيد الكالسيوم او هيدروكسيد الباريوم بدلا من هيدروكسيد الصوديوم. و يمكن ايضا ترسيب البروتينات بأضافة ملح ذائب لاحد الفلزات مثل خلات الرصاص القاعدية او الزئبق و غيرها . و هكذا نلاحظ ان تفاعلات ترسيب البروتينات و التي تشمل ظاهرة مسخ البروتين Denaturation و التمليح الخارجي Salting out و الترسيب العكسي Reversible Precipitation و غير العكسي Irreversible Precipitation . و تتأثر بنقطة التعادل الكهربائي ممثلا بعامل الشحنة و كذلك المذيب بارتباطه مع جزيئات البروتين بالمحلول.

تجربة رقم (9)

الترسيب بواسطة المعادن الثقيلة Precipitation by heavy metals

حيث عند ذوبان البروتينات في محاليل قاعدية مخففة فان جزيئاتها الفردية تكون مشحونة بشحنة سالبة ، و بالتالي نجد ايونات العناصر الثقيلة الموجبة الشحنة كالحديد، الزنك ، الرصاص ، الفضة و غيرها تعمل على معادلة هذه الشحنة السالبة لتترسب جزيئات البروتين بالمحلول و يذوب هذا الراسب مرة اخرى بإضافة زيادة من محلول العنصر الثقيل ، حيث الزيادة من الايونات الموجبة تعطي شحنة موجبة لجزيئات البروتين.



المواد و الكواشف The Reagents

1- محلول زلال البيض

2- محلول كلوريد الجديديك 1%

3- محلول خلات الرصاص 1%

4- محلول كبريتات النحاس 1%

5-محلول هيدروكسيد الصوديوم

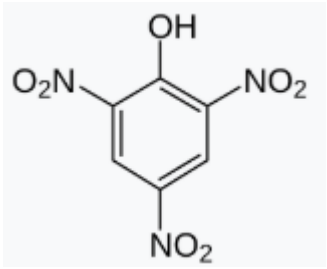
طريقة العمل The Method

في انبوبة اختبار، اضف قطرة من محلول هيدروكسيد الصوديوم الى قليل من محلول زلال البيض ثم 1 مل من احد املاح الايونات الموجبة و لاحظ تكون الراسب و لونه في كل مرة.

تجربة (10)

الترسيب بواسطة الكواشف الحوامضية

حوامض البكريك ، التنكستيك ، ثلاثي كلورو حامض الخليك ، السلفوسالسيلك، الفوسفومولبديك تعتبر مرسبة للبروتينات حيث تعمل ايوناتها السالبة على معادلة الايونات الموجبة التي تحملها جزيئات البروتين في المحيط الحامضي.



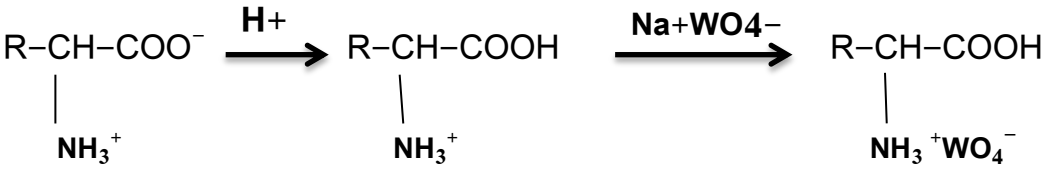
حامض البكريك

Na_2WO_4

تنكستات الصوديوم

CCl_3COOH

ثلاثي كلورو حامض الخليك



المواد و الكواشف The reagents

1–زلال البيض

2– تنكستات الصوديوم1%

3– ثلاثي كلورو حامض الخليك1%

4– حامض البكريك 1%

طريقة العمل The Method

اضف الى قليل من محلول زلال البيض بضع قطرات من حامض الخليك ثم اضف 1 مل من محلول الايون السالب (تنكستات الصوديوم ، ثلاثي كلورو حامض الخليك) و لاحظ لون الراسب المتكون في كل حالة.

تجربة رقم (11)

ترسيب البروتينات عند نقطة تعادلها الكهربائي Iso electric precipitation

تكون البروتينات ذائبة فوق نقطة تعادلها الكهربائي (عندما تحمل شحنة سالبة في المحيط القاعدي) و تحت نقطة تعادلها الكهربائي (عندما تحمل شحنة موجبة في المحيط الحامضي) اما في نقطة تعادلها الكهربائي فيكون عدد الشحنات الموجبة و السالبة متساوي فيكون البروتين اقل ذوبانان في هذه الـ pH.

المواد و الكواشف The Reagents

1- محلول الكازائين

2-صبغة البروموكريزول الاخضر Bromo cresol green

3- حامض الهيدروكلوريك

4- محلول هيدروكسيد الصوديوم

طريقة العمل The Method

1- اضف قطرات من صبغة البروموكريزول الاخضر الى 1 مل من محلول بروتين الكازائين في انبوبة اختبار ، اذ ظهر لون ازرق دل ذلك ان المحيط قاعدي (لان لون هذه الصبغة ازرق في المحيط القاعدي) فيجب اضافة قطرة قطرة من محلول حامض الهيدروكلوريك مع الرج المستمر بعد كل قطرة الى ان يصبح اللون مزرق مع راسب كثيف دلالة على الى نقطة التعادل الكهربائي لكازئين الحليب (pH=5.4).

اما اذا ظهر لون اصفر فذلك دلالة على ان المحيط حامضي (لان لون هذه الصبغة اصفر في المحيط الحامضي) فيجب بالحالة هذه اضافة قطرة من محلول هيدروكسيد الصوديوم مع الرج المستمر بعد اضافة كل قطرة الى ان يصبح اللون اخضر مزرق مع تكون راسب كثيف دلالة على الوصول الى نقطة التعادل الكهربائي لكازئين الحليب (pH=5.4).

2- اعد التجربة باستخدام محلول بياض البيض مع تجنب اضافة كمية كبيرة من الحامض او القاعدة الى كازئين الحليب لان ذلك يؤدي الى تغير المحيط بصورة سريعة و ربما يمنع ظهور اللون الاخضر المزرق و الراسب.