***البروتينات PROTEINS***

**مركبات عضوية** معقدة التركيب ذات وزن جزيئي عالٍ تتركب من الاحماض الامينية ,تتواجد في تركيب كل المخلوقات الحية والفايروسات وهي الحجر الأساس في بناء الخلية وإدامة هيكلها , بالإضافة الى كونها واسطات وظائف الخلية فالعديد من البروتينات تشكل الإنزيمات أو قد تدخل وحدات بروتينية في تركيب بعض الإنزيمات وتضم الخلية ألافا من جزيئات البروتينات المختلفة في خواصها الحياتية و الكيميائية و الفيزيائية.

يتم استخلاص البروتينات من مصادرها ايا كانت لإغراض شتى مثل:-

1- تنقيتها وفصلها كل على انفراد لغرض تشخيصها وتقدير كميتها.

2- دراسة الخواص البايلوجية والكيميائية والفيزيائية للبروتينات لغرض استنباط علاقة التركيب بالوظيفة

3-مقارنة البروتينات المستخلصة من نماذج مختلفة لغرض استنتاج علاقات مفيدة في الاغراض الدراسية المقارنة.

4- استخلاصها للإغراض التجارية حيث تدخل في العديد من الصناعات الدوائية والغذائية.

ان طرق استخلاص البروتينات تعتمد على أسس كثيرة ومتنوعة ,فهنالك البروتينات غشائية الموقع, وهناك البروتينات سايتوبلازمية الموقع وكذلك توجد بروتينات عائدة لعضيات الخلية المختلفة كالمايتوكوندريا وجهاز كولجي والشبكة الاندوبلازمية بالإضافة الى ذلك فان مصدر البروتينات يمكن ان يكون غير خلوي وعليه فلابد من التأكيد على مصدر الاستخلاص عند القيام باستخلاص بروتينات معينة تنتمي الى عضية ما .

في التجربة الحالية سيتم استخلاص البروتينات من أغشية الخلايا وبالذات بروتينات غشاء كريات الدم الحمراء وتنقسم هذه البروتينات الى مجموعتين:

***الاولى***

البروتينات التركيبيه structural proteins وهي البروتينات التي تكون مندمجة مع مكونات الجدار الخاص بالخلية مثل Lipoprotiens التي تجوب طبقتي الدهن للغشاء وتكون أواصر مع الدهون او ترتبط بعوامل أخرى كالفلزات عن طريق أواصر كيميائية.

***الثانية***: مجموعة البروتينات الغير المندمجة (non Integral proteins).او الغير تركيبية non structural proteins وتكون غير مرتبطة مع الجدار مثل الانزيمات.

إن استخلاص هذه المجموعة ياتي عن طريق تخريب التأصر بين الدهون والبروتينات والفلزات المتحدة معها ,وغالبا ما تستعمل المنظفات ((Detergentوهي مواد كيميائية اليفاتية في

[](http://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0CAcQjRw&url=http%3A%2F%2Fspanish.alibaba.com%2Fproduct-gs%2Fglycine-molecule-structure-model-201627194.html&ei=qLVDVIDxAs7KPeqmgSA&bvm=bv.77648437,d.ZWU&psig=AFQjCNFvYCOO421krh5RbGDz_B4NLJSBlg&ust=1413809467602458)

معظم تركيبها وتوفر عنصرا مفككا للتأصر وهي بذلك تفصل البروتينات

عما يؤاصرها ويثبتها في مكانها.

.

***تقدير البروتينات Proteins Estimation***

توجد عدة طرق لقياس تراكيز البروتينات اهمها:

**1. الطريقة الطيفية Spectrophotometric method**

تحتوي اغلب البروتينات على الحامضين الامينيين التايروسين والتربتوفان ويتصف هذان الحامضان في امتصاصهما على طول موجي قدره275 و280 نانوميتر على التوالي. وبما ان مستوى هذين الحامضين يكاد يكون ثابتا في كثير من البروتينات ، فان كمية الامتصاص التي غالبا مايشار اليها بالكثافة الضوئية Optical density (O.D)تتناسب طرديا مع كمية هذين الحامضين وهي بذلك تتناسب طرديا مع عدد جزيئات البروتين في المحلول أي كميته. وغالباماتستخدم هذه الطريقة لتقدير البروتينات النقية معروفة النوع ، ذلك ان الطريقة تعتمد على ربط العلاقة بين معامل الاطارة لذلك البروتين وكثافته الضوئية .

المواد: جهاز المطياف Spectrophotometer ، محلول بروتين نقي

تملئ الحاوية Cuvette بمحلول البروتين ويتم قراءة الكثافة الضوئية على طول موجي قدره280 نانوميتر.

**2. طريقة بايوريت Biuret method**

تتصف المركبات الكيمياوية الحاوية على اصرتين ببتيديتين أو اكثر (البروتينات ) بتكوينها لون ارجواني عند معاملته بمحلول قاعدي مخفف لكبريتات النحاس . Copper sulfate وينشأ هذا التفاعل من خلال تكوين معقد بين ذرة نحاس واربع ذرات نايتروجينية (اثنان من كل سلسلة كما هو موضح بالشكل لكن هذا التفاعل لايحدث اذا كان تركيز البروتين اقل من واحد ملغرام /مل وغلبا مايستعمل لتقصي كميات البروتينات في محاليلها الحاوية على تراكيز 20 ملغرام /مل.

**3.طريقة لاوري Lowry method**

تعتمد هذه الطريقة في تقدير كمية البروتين على تكون لون ازرق عند اضافة تركيبة فولن\_سيكالتيو Folin-Ciocalteau . واساس تكون اللون يرجع إلى تفاعل البروتين مع ايون النحاس القاعدي في تركيبة فولن\_سيوكالتيو(كما يحدث في طريقة بايوريت). ويتم اختزال معقد فوسفات المولبديت - فوسفات التنكستيت بواسطة الاحماض الامينية التايروسين والتربتوفاين وبدرجة اقل الفنايل النين في البروتين . وبما ان كمية هذه الاحماض الامينية تتغير طبيعتها من بروتين إلى اخر ، فان كمية اللون الناتجة لكل ملغرام بروتين ستكون متغيرة طبقا للبروتين تحت القياس أو المراد تخمين كميته . تتصف طريقة لاوري في تقدير البروتين بحساسيتها تجاه الكميات الضئيلة من تراكيز البروتينات لكن ضعف الطريقة ينبع من عدم ثبوتية نواتجها بسبب تغير كمية الاحماض الامينية التايروسين و التربتوفان في البروتينات المختلفة . و عند مقارنتها بطريقة بايوريت يتضح ان طريقة بايوريت تعتمد على قياس الاصرة الببتيدية وهي بذلك خاصة لتقييس كمية البروتينات و عامة في تناولها لمختلف البروتينات لكنها غير حساسة لمقادير ضئيلة كطريقة لوري التي تستطيع كميات ضئيلة تصل إلى 5 مايكروغرام من البروتين.

**المواد**

**جهاز المطياف الضوئي,محلول البروتين النقي,محلول الفوسفيت بفر**

**طريقة العمل**

**1-يصفر الجهاز بواسطة البفر المستخدم في حفظ البروتين بوضع 1 مل من البفر لوحده في cuvette.**

**2 –تغسل الكيوفيت بالماء المقطر ويوضع 1 مل من محلول البروتين المراد قياسه وتقاس الامتصاصية على 280 ثم تقاس على 235**

1. **لمعرفة تركيز البروتين في المحلول تطبق المعادلة :**

**235O.D \_280 O.D**

**تركيز البروتين (mg/ml) =**

2.51