

البروتينات

Proteins

تشمل المبلمرات الحيوية ثلاث طوائف رئيسية هي عديدات السكر والأحماض النووية والبروتينات. ومن هذه الطوائف الثلاثة تعد البروتينات أكثرها إنتشاراً حيث تُشكّل ٧٥٠٪ أو أكثر من الوزن الجاف لمعظم الخلايا، فتوجد البروتينات في كل الخلايا وفي جميع أجزاء الخلية. وتوجد أنواع مختلفة من البروتينات في الأنظمة الحية، فالخلية الواحدة تحتوي على عدّة مئات من البروتينات المختلفة التي تتباين في وظائفها، فتحدد البروتينات شكل وتركيب الخلية وتعمل كأداة للتعرف الجزيئى والحفز الإنزيمى كما أنها تقوم بنقل الجزيئات البيولوجية وتنظيم الأيض.

بروتين Protein اسم مشتق من الكلمة اللاتينية Proteios †
والتي تعنى الأول أو فى المقام الأول
وقد ابتكر هذه الكلمة Jons J. Berzelius فى عام ١٨٣٨ لتوكيد
أهمية هذا القسم من الجزيئات فى الأنظمة الحية

مع هذا التنوع فى الوظائف لا يدهشنا أن نرى البروتينات مواداً معقدة البناء تتباين فى حجمها وأشكالها، لكن مع هذا التنوع فى الشكل والحجم والمهام فإنها فى الحقيقة مبلمرات لمواد بسيطة هى الأحماض الأمينية. فالبروتينات - سواء الموجودة فى البكتريا أو فى أكثر صور الحياة تطوراً وهو الإنسان - تبنى من عشرين حمضاً أمينياً التي ترتبط ببعضها تساهمياً فى تتابع مميز. وهذه الأحماض الأمينية العشرين التي أحياناً يشار إليها بالحروف الأبجدية للبروتين هي التي تحدد بناء وخواص وكذا وظائف البروتينات.

البروتينات تقوم بوظائف بيولوجية متعددة ومختلفة

تلعب البروتينات دوراً حاسماً وفعالاً في جميع العمليات البيولوجية، ويمكن توضيح وظائف البروتينات في الأنظمة الحية في أوجه النشاط التالية:

١ - الحفز الإنزيمي: تُحفر كل التفاعلات الكيميائية في الأنظمة الحية تقريباً بواسطة جزيئات تعرف بالإنزيمات. وكل الإنزيمات تظهر قوة حفز كبيرة فهي عادة تزيد معدل التفاعل بعامل لا يقل عن مليون. وفي الحقيقة فإن التحولات الكيميائية نادرة الحدوث بمعدل محسوس في الخلايا الحية في غياب الإنزيمات. وقد أمكن التعرف على عدة آلاف من الإنزيمات، والنقطة الملفتة للنظر هو أن كل الإنزيمات المعروفة هي بروتينات. وعلى ذلك فإن البروتينات لها دور فريد في تحديد نمط التحولات الكيميائية في الأنظمة الحية.

٢ - النقل والتخزين : عدد كبير من الجزيئات الصغيرة والأيونات تنتقل داخل الأنظمة الحية بواسطة بروتينات خاصة. مثال ذلك يقوم الهيموجلوبين hemoglobin في خلايا الدم الحمراء بنقل الأكسجين من الرئة إلى الأنسجة المختلفة، بينما الميوجلوبين myoglobin وهو بروتين مشابه يقوم بنقل الأكسجين في العضلات. كما يحمل الحديد في بلازما الدم بواسطة بروتين ترانس فيرين transferrin، بينما يخزن في الكبد في صورة معقدة مع بروتين آخر هو فيريتين ferritin.

٣ - تنظيم الأيض والنمو والتميز : تُشارك بعض البروتينات في تنظيم الأنشطة الخلوية والفسيوولوجية، ومن هذه البروتينات بعض الهرمونات مثل الإنسولين insulin الذي ينظم أيض السكريات. وفي البكتريا تمثل بروتينات وقف الابتداء-repression pro-teins عناصر تحكم مهمه والتي توقف نسخ جزء من DNA مسؤل عن إبتناء إنزيمات معينه في حالة توافر النواجج النهائية التي تقوم هذه الإنزيمات بابتنائها.

٤ - الحماية بالمناعة المكتسبة : الأجسام المضادة antibodies هي بروتينات على درجة كبيره من التخصص لها القدرة على التعرف والإتحاد بالمواد الغريبة مثل الفيروسات والبكتريا والخلايا من الكائنات الأخرى.

٥ - الإنقباض والحركة : البروتينات هي العناصر الأساسية في العضلات. فيرتبط بإنقباض

العضلات حركة إنزلاقية لنوعين من البروتينات الليفية هما *actin* و *myosin*. والحركات المتناسقة الأخرى التي تشمل حركة الكروموسومات فى الإنقسام الميتوزى وحركة البكتريا بواسطة الأسواط هى على المستوى الميكروسكوبى حركات إنقباضية لمجموعه من البروتينات.

٦ الدعامة الميكانيكية: عدد كبير من البروتينات تؤدي وظيفة دعامية حيث تعطى للتركيبات البيولوجية القوة والحماية. فمقاومة الشد الكبيرة فى الجلد والعظام ترجع إلى وجود بروتين ليفى هو كولاجين *collagen*.

٧ - توليد وإرسال النبضات العصبية: إن استجابة الخلايا العصبية لأحد المستحثات يتم بواسطة مستقبلات بروتينية *protein receptors*. مثال ذلك بروتين الروديسن *rho-dopsin* هو المستقبل الضوئى فى الخلايا العصبية *rod cell*. والمستقبلات الجزئية والتي يمكن أن تستحث بواسطة جزيئات صغيرة مثل أسيتايل كولين هى بروتينات مسؤولة عن إرسال النبضات العصبية عند مناطق إتصال الخلايا العصبية.

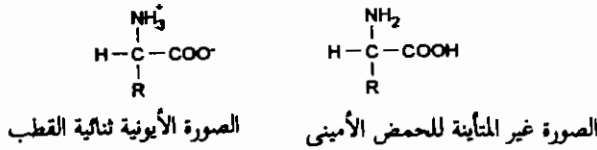
٨ - وظائف أخرى: هناك عدد كبير من البروتينات تكون وظيفتها محصورة على نوع معين من الكائنات أو أن وظيفتها لم تحدد على وجه الدقة. فتحوى بلازما بعض الأسماك التى تعيش فى مياه القطب على بروتينات مضاده للتجمد *antifreez proteins* التى تمنع تجمد دم هذه الأسماك عند درجات الحرارة المنخفضة. مونيللين وهو بروتين يوجد فى بعض النباتات الأفريقية وله مذاق حلو لم تعرف وظيفته بعد.

الأحماض الأمينية هى الوحدات البنائية للبروتينات

تبنى البروتينات من الأحماض الأمينية، فعند غليان البروتينات مع الأحماض أو القواعد القوية فإن الوحدات البنائية لهذه البروتينات وهى الأحماض الأمينية تنفرد نتيجة لتحررها من الإرتباط التساهمى الذى يربط بينهم فى البروتين. وكل الأحماض الأمينية التى وجدت فى البروتينات هى جزيئات بسيطة نسبيا ولها تركيب عام مشترك. فالحمض الأمينى يحتوى على مجموعة أمينو ومجموعة كربوكسيل وذره هيدروجين ومجموعة

الجزيئات البيولوجية : التركيب والوظيفة البيولوجية

كيميائية R- ترتبط جميعها بذره كربون التي تُعرفُ بذره الكربون الفا (α) (شكل ٦ - ١). والمجموعة R- والتي تختلف من حمض أميني لآخر يشار إليها بالسلسلة الطرفية side chain (أو المجموعة الطرفية).

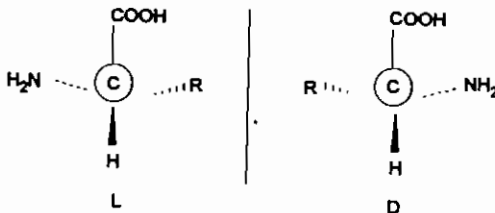


شكل ٦ - ١

تركيب الصورة غير الأيونية والصورة الأيونية ثنائية القطب للأحماض الأمينية

الأحماض الأمينية في المحاليل المتعادلة توجد في صورة أيونات ثنائية القطب dipolar وليس في صورة جزيئات غير متأينة (شكل ٦ - ١). وفي الحقيقة فإن حالة التأين للأحماض الأمينية تعتمد على الرقم الهيدروجيني (pH) للوسط الذي توجد فيه.

ذره الكربون ألفا في كل الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب البروتينات ماعدا الحمض الأميني جليسين هي ذره كيراليه أو غير متماثلة نتيجة لإرتباطها بأربع مجموعات كيميائية مختلفة، ولذلك تُبدى الأحماض الأمينية نشاطا ضوئيا. فيوجد لكل حمض أميني متشكّلان ضوئيان يطلق عليهما المتشكّل L والمتشكّل D (شكل ٦-٢)، إلا أن كل الأحماض الأمينية المكوّنة للبروتينات هي متشكّلات L، هذا بالمقارنة بالسكريات الأحادية الموجودة في الأنظمة الحية التي توجد في الهيئة الفراغية D.



شكل ٦ - ٢

الهيئة الفراغية للمتشكّلان L و D في الأحماض الأمينية

الأحماض الأمينية يمكن تقسيمها إلى أربع مجموعات بناء على الخواص القطبية للمجموعة الطرفية (R)

عشرون نوعاً من السلاسل الطرفية R التي تختلف في الحجم والشكل والشحنة والقدرة على تكوين الروابط الهيدروجينية والنشاط الكيميائي، توجد في الأحماض الأمينية العشرين التي تدخل في بناء البروتينات. ومن الثابت أن البروتينات في كل أنواع الكائنات الحية من البكتريا إلى الإنسان تتكون من عشرين نوعاً من الأحماض الأمينية التي تختلف في طبيعة المجموعة الطرفية (جدول ٦ - ١). والإختلاف في تركيب البروتينات والمدى الواسع للوظائف التي تتم بواسطة البروتينات يرجع إلى التنوع والتكرار والتتابع المميز للأحماض الأمينية في البروتينات. وسوف يتضح فيما بعد كيف أن التتابع المميز والتكرار للأحماض الأمينية في البروتينات يحدد بناؤها الجسم ثلاثي الأبعاد وبالتالي يحدد الوظيفة البيولوجية للبروتينات.

يمكن تصنيف الأحماض الأمينية الداخلة في بناء البروتينات إلى أربع مجموعات بناء على الخواص القطبية للمجموعات R الطرفية، فالمجموعات الطرفية في الأحماض الأمينية تختلف في قطبيتها في مدى واسع في المحاليل المتعادلة من مجموعات طرفية غير قطبية كلية (كارهه للماء) إلى مجموعات طرفية على درجة كبير من القطبية (محبه للماء) وهذه المجموعات الأربعة هي:

١ - الأحماض الأمينية غير القطبية : يشمل هذا القسم على ثمانية أحماض أمينية تحتوي على مجموعات طرفية أليفاتية أو عطرية (شكل ٦ - ٣). خمسة أحماض منها تحتوي على مجموعات طرفية اليفاتية وهي ألانين وفالين وليوسين وأيسوليوسين وبرولين. مع ذلك فإن برولين يختلف عن الأحماض الأمينية الأخرى في أنه يحتوي على مجموعة إيمينو imino group وليس مجموعة أمينو amino group وفي الحقيقة فإن برولين حمض إيمينو وليس حمض أميني. يحتوي هذا القسم أيضا على ميثونين الذي يحتوي على كبريت في المجموعة R واثنين من الأحماض الأمينية العطرية هما فينيل ألانين وترتوفان.

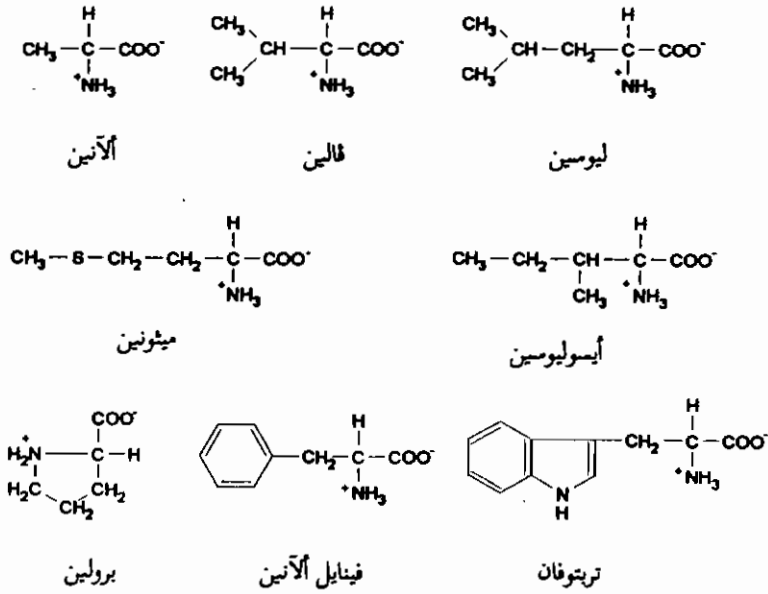
جدول ٦ - ١

الأحماض الأمينية التي تدخل في بناء البروتينات ورموزها المختصرة

الرمز المختصر	الحمض الأميني	
Ala	Alanine	الآلنن
Arg	Arginine	أرجنين
Asn	Asparagine	اسبارجين
Asp	Aspartic acid	حمض أسبارتيك
Cys	Cysteine	سستين
Gln	Glutamine	جلوتامين
Glu	Glutamic acid	حمض جلوتاميك
Gly	Glycine	جليسين
His	Histidine	هستيدين
Ile	Isoleucine	أيسوليوسين
Leu	Leucine	ليوسين
Lys	Lysine	لايسين
Met	Methionine	ميثيونين
Phe	Phenlalanine	فينايل الآلنن
Pro	Proline	برولين
Ser	Serine	سيرين
Thr	Threonine	ثريونين
Trp	Trptophan	ترتروفان
Tyr	Tyrosine	تيروزين
Val	Valline	فالين

٢ - الأحماض الأمينية القطبية : يشمل هذا القسم على سبعة أحماض أمينية تحتوي على مجموعات R قطبية ولكن عديمة الشحنة (شكل ٦ - ٤). وترجع قطبية

هذه الأحماض إلى قطبية مجموعة الهيدروكسيل (سيرين وثريونين وتيروسين)، أو مجموعة أميد (أسباراجين وجلوتامين) أو مجموعة ثيول (سستين) في المجموعات الطرفية لهذه الأحماض. يوضع أيضا الحمض الأميني جليسين في هذه المجموعة.



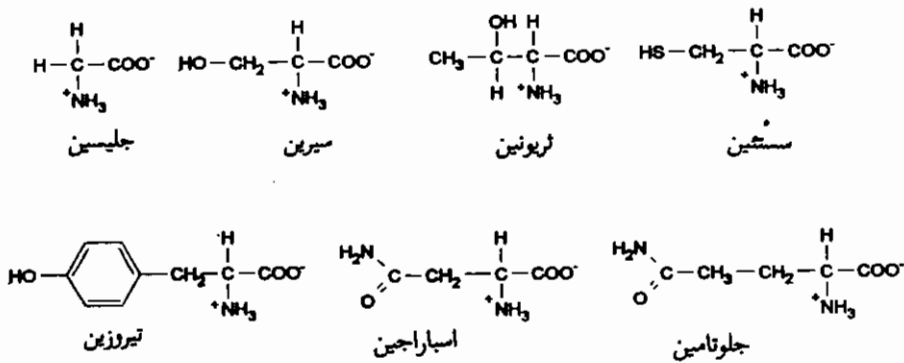
شكل ٦ - ٣

الأحماض الأمينية غير القطبية والتي تحتوي على مجموعات R الهيدراتية أو عطرية

وسوف نناقش فيما بعد الدور الخاص الذي يلعبه الحمض الأميني سستين في بعض البروتينات وذلك بتكوينه للروابط ثنائية الكبريتيد disulfide bond.

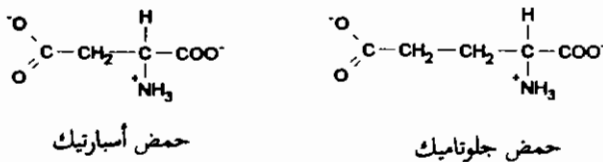
٣ - الأحماض الأمينية الحامضية: تشمل إثنان من الأحماض الأمينية كلاهما يحتوي على مجموعة طرفية تحمل شحنة سالبة (مجموعة كربوكسيل متأينة) عند الرقم الهيدروجيني المتعادل هما حمض أسبارتيك وحمض جلوتاميك (شكل ٦ - ٥).

٤ - الأحماض الأمينية القاعدية: المجموعة الطرفية في هذه الأحماض الأمينية تحمل



شكل ٦ - ٤

الأحماض الأمينية القطبية (المجموعة R قطبية ولكن لا تحمل شحنة)

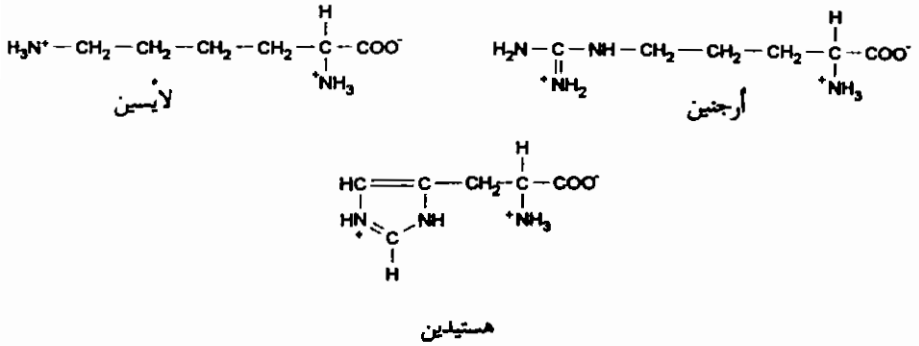


شكل ٦ - ٥

الأحماض الأمينية الحامضية أسبارتيك وجلوتاميك كلاهما يحتوي على مجموعة كربوكسيل ثانية في المجموعة الطرفية

شحنة موجبة عند الرقم الهيدروجيني المتعادل، ويشمل هذا القسم ثلاثة أحماض أمينية (شكل ٦ - ٦) هم لايسين الذي يحمل مجموعه أمينو ثانيه فى السلسلة الطرفية، وأرجنين الذى يحتوى على مجموعه جوانيدو guanidium، والهستيدين الذى يحتوى على مجموعة إيميدازول imidazole ضعيفة التأيين.

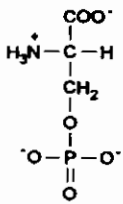
بعض الأحماض الأمينية الأخرى توجد فى أنواع محدوده من البروتينات بعض البروتينات تحتوى على بعض أحماض أمينية خاصة والتي تتكون نتيجة لتحويل الأحماض الأمينية الشائعة بعد إدماجها فى السلسلة الببتيدية للبروتين. فمثلا يحتوى



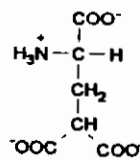
شكل ٦ - ٦

الأحماض الأمينية لايسين وهستيدين تحتوي على سلسلة جانبية قاعدية

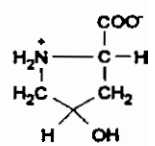
بروتين كولاجين على هيدروكسي برولين وهو مشتق هيدروكسيلي للحمض الأميني برولين (شكل ٦ - ٧)، ويظهر أن مجموعة الهيدروكسيل المضافة تقوم بتثبيت الياف الكولاجين. وتظهر الأهمية البيولوجية لهذا التحوير للحمض الأميني برولين في مرض الاسقربوط scurvy الذي ينتج عن عدم إدخال كمية كافية من مجموعات الهيدروكسيل في الكولاجين. ومن الأحماض الأمينية الخاصة الأخرى هو حمض جاما



فوسفوسيرين



جاما كربوكسي جلوتامات



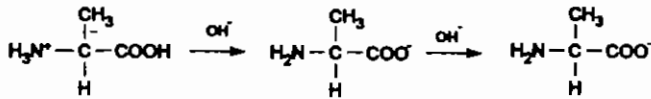
هيدروكسي برولين

شكل ٦ - ٧

بعض الأحماض الأمينية المحورة الموجودة في بعض البروتينات وهي هيدروكسي برولين، حمض جاماكاربوكسي جلوتامات وفوسفوسيرين. تضاف المجموعات بعد تكوين السلسلة الببتيدية في البروتين

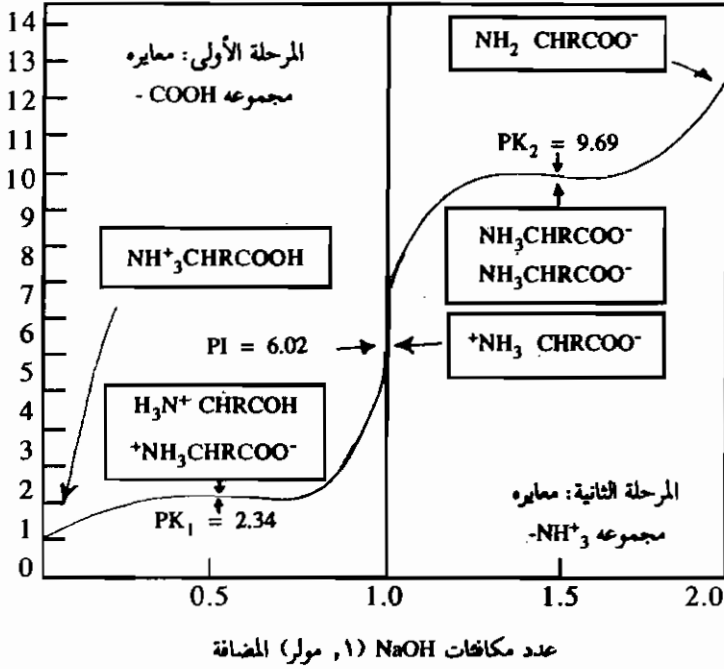
الأحماض الأمينية تختلف في خواصها الحامضية - القاعدية

تتأين الأحماض الأمينية في المحاليل المائية حيث تعمل كأحماض أو قواعد، ومعرفة الخواص الحامضية - القاعدية للأحماض الأمينية يمثل أهمية كبيرة في تفهم عدد كبير من خواص البروتينات. بالإضافة إلى ذلك فإن فصل الأحماض الأمينية من البروتينات والتعرف عليها يعتمد أيضا على السلوك الحامضى - القاعدى المميز للأحماض الأمينية. فتحتوى الأحماض الأمينية الآتية مثلا - على مجموعتين أيونيتين: مجموعة الكربوكسيل - الفأ، ومجموعة الأمين - الفأ. وفي الصورة البروتونية الكاملة يتم تنقيط هاتين المجموعتين كالآتى:



ويوضح شكل (٦ - ٩) منحنى المعايرة للحمض الأميني الآتية والذي يظهر مرحلتين مميزتين كل منهما يمثل إزالة أحد البروتونات. كل مرحلة تماثل في شكلها منحنى المعايرة للأحماض أحادية البروتون مثل حمض الأميتيك (شكل صفحة ٧٨)، وبذلك يمكن تحليله بنفس الطريقة. فتكون قيمة الـ pK لمجموعة الكربوكسيل ألفا في حدود ٢,٣٤، بينما الـ pK لمجموعة الأمينو الفأ في حدود ٩,٦٩. ويعطى المنحنى أيضا علاقة بين الرقم الهيدروجيني والشحنة الكهربائية على الجزيء، فعند رقم هيدروجيني ٦,٠٢ وهى نقطة الإنعطاف بين المنحنيين حيث يوجد الجزيء فى الصورة الأيونية الشثائية، لا يكون للآتية شحنة كهربائية نهائية أى يكون متعادلا كهربائيا عند هذا الرقم الهيدروجيني ولن يتحرك فى مجال كهربى. هذه النقطة تعرف بنقطة التعادل الكهربى (pI) isoelectric point والتي يمكن حسابها من المعادلة التالية:

$$pI = \frac{1}{2} (pk_1 + pk_2)$$



شكل ٦ - ٩

منحنى المعايرة لـ ١, مولر ألانين موضعا فيه أنواع الأيونات السائدة عند قيم الرقم الهيدروجيني المختلفة

وهي في حالة ألانين

$$pI = \frac{1}{2} (2.34 + 9.69) = 6.02$$

وعند رقم هيدروجيني أعلى من نقطة التعادل الكهربى فإن ألانين يحمل شحنة نهائية سالبة وسوف يتحرك نحو القطب الموجب عند وضعه فى مجال كهربى، بينما عند رقم هيدروجيني أقل من نقطة التعادل الكهربى فسوف يحمل ألانين شحنة موجبة وستتحرك إلى القطب السالب.

الأحماض الأمينية التى تحتوى على مجموعة كربوكسيل ألفا ومجموعة أمينو ألفا ومجموعة طرفيه غير متأنيه يكون لها منحنى معايره مماثل لمنحنى المعايره للألانين. وهذه

الأحماض الأمينية (جدول ٦ - ٢) تكون مميزة باحتوائها على pK_1 و pK_2 متقاربه ولكن ليست متساوية. أما الأحماض الأمينية التي تحتوى على مجموعة طرفية متأينه يكون لها منحى معايره يشتمل على ثلاثة خطوات تأين وبذلك يكون لها ثلاثة قيم لـ pK ، إحداها للمجموعة المتأينه فى السلسلة الطرفية (جدول ٦ - ٢).

جدول ٦ - ٢

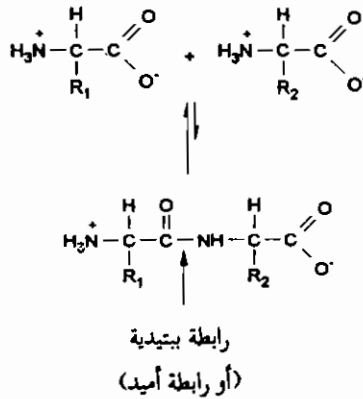
قيم pK للمجموعات المتأينه فى الأحماض الأمينية

pK_R	pK_2 $\alpha - N^+H_3$	pK_1 $\alpha - COOH$	العضء الأمينى
	٩,٦٠	٢,٣٤	جليسين
	٩,٦٩	٢,٣٤	الأنين
	٩,٦٠	٢,٣٦	ليوسين
	٩,١٥	٢,٢١	سيرين
	١٠,٤٣	٢,٦٣	ثريونين
	٩,١٣	٢,١٧	جلوتامين
٣,٨٦	٩,٨٢	٢,٠٩	حمض أسبارتيك
٤,٢٥	٩,٦٧	٢,١٩	حمض جلوتاميك
٦,٠٠	٩,١٧	١,٨٢	هستيدين
٨,٣٣	١٠,٧٨	١,٧١	سستين
١٠,٠٧	٩,١١	٢,٢٠	تيروزين
١٠,٥٣	٨,٩٥	٢,١٨	لايسين
١٢,٤٨	٩,٠٤	٢,١٧	أرجنين

هذه المعلومات بالإضافة إلى أهميتها فى تحديد خواص البروتينات، فإنها أيضا ذات أهمية عمليه حيث يمكن فصل الأحماض الأمينية المختلفه عن بعضها بناء على إجهاد ومعدل هجرتها عند وضعها فى مجال كهربى عند رقم هيدروجينى معلوم، وذلك لإختلاف الأحماض الأمينية فى قيم الـ pK وكذلك نقطة التعادل الكهربى.

الأحماض الأمينية ترتبط ببعضها بواسطة الروابط الببتيدية لتكون سلاسل عديد الببتيد

تتألف البروتينات من الأحماض الأمينية التي ترتبط ببعضها بواسطة الروابط الببتيدية. ويتم تكوين الرابطة الببتيدية في البروتينات عن طريق ارتباط مجموعة الكربوكسيل ألفا لحمض أميني مع مجموعة الأمينو ألفا لحمض أميني آخر (يطلق أيضا على الرابطة الببتيدية برابطة الأميد). ويوضح شكل (٦-١٠) تكوين بيتيد ثنائي من حامضين أمينيين بإزالة جزيء ماء. الإتزان في هذا التفاعل يكون في إتجاه تحلل الببتيد وليس في إتجاه تكوينه، لذلك فإن تكوين الروابط الببتيدية يحتاج إلى إضافة طاقة حرة، بينما تحلل الرابطة الببتيدية هو المفضل من وجهه نظر الحركة الحرارية لانه تفاعل منتج للطاقة.



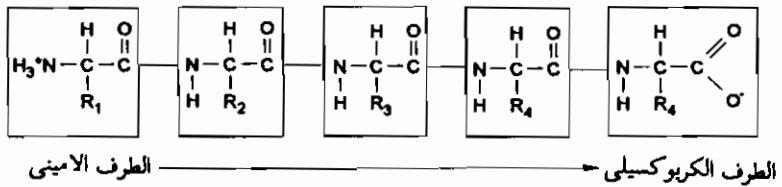
شكل ٦ - ١٠

تكوين الرابطة الببتيدية (Peptide bond)

بناء على عدد الأحماض الأمينية المرتبطة تتكون سلاسل ببتيدية متباينة في تعقيدها. فالبيتيدات الثلاثية تتألف من إرتباط ثلاثة أحماض أمينية، والبيتيدات الرباعية تتكون من إرتباط أربعة أحماض أمينية. وعموما فإن السلاسل القصيرة التي تحتوي حتى عشرين حمضاً أمينياً تدعى بالبيتيدات، أما التي تحتوي على أكثر من ذلك فتعرف بعديد الببتيد polypeptide. والبروتين عباره عن بيتيد عديد وجزيئات البروتينات الصغيرة قد تحتوي على سلسلة من خمسين إلى مائة حمض أميني، أما البروتينات الكبيره قد تحتوي على

٣٠٠ حمضاً أمينياً أو أكثر. من أكبر سلاسل عديد الببتيد المعروفة هي تلك الموجودة في بروتين العضلات ميوسين myosin حيث تحتوى على حوال ١٧٥٠ حمضاً أمينياً.

يوضح شكل (٦ - ١١) جزءاً من سلسلة ببتيديه والتي تظهر كنظام خطى غير متفرع. يكون عادة لسلسلة عديد الببتيد إتجاه معين وذلك لأنه توجد للوحدات البنائية المكوّنه لهذه السلسلة نهايتين مختلفتين وهما مجموعة الأمينو - ألفا ومجموعة الكربوكسيل - الفا. وعادة ما يطلق على هذين الطرفين بالطرف الأمينى amino - ter- minal والطرف الكربوكسيلي carboxy - terminal على التوالى. ولقد اتفق على أن يتم ترقيم تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد بداية من الطرف الأمينى الذى يأخذ رقم واحد. ففي الببتيد الثلاثى الآنين - جليسين - تربتوفان فإن الآنين هو الطرف الأمينى ويأخذ الرقم واحد بينما تربتوفان هو الطرف الكربوكسيلي ويأخذ الرقم ثلاثة. ومن الجدير بالذكر أن الببتيد الثلاثى: تربتوفان - جليسين - الآنين هو ببتيد ثلاثى آخر يختلف عن الببتيد الثلاثى المذكور أعلاه.



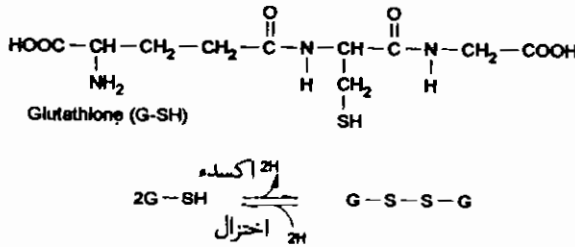
شكل ٦ - ١١

جزء من سلسلة عديد الببتيد - تبدأ السلسلة من النهاية المحتوية على مجموعة الأمينو الحرة. تحتوى سلسلة عديد الببتيد على أجزاء مكرره منتظمة يطلق عليها السلسلة الرئيسية وعلى جزء متغير يتكون من سلاسل طرفية يميزه (شكل ٦ - ١١)، ويطلق أحيانا على السلسلة الرئيسية بالعمود الفقري لجزئ البروتين.

بعض الببتيدات لها نشاط بيولوجى مهم

بالإضافة إلى أن الببتيدات تتكون كنتاج لتحلل الجزئى للبروتينات فإن عدداً من الببتيدات

توجد في صورة حرة في الأنظمة الحية حيث تقوم بوظائف بيولوجية هامة. فالبيتيد الثلاثي جلوتاثيون glutathione الذي يتألف من ثلاثة أحماض أمينية هي جلوتاميك ومستئين وجليسين (شكل ٦ - ١٢) ينتشر في الأنظمة الحية، فيوجد في الكبد والعضلات والخميرة. يختلف تركيب هذا البيتيد عن البيتيدات الأخرى في أن إرتباط حمض الجلوتاميك يتم عن طريق مجموعة الكربوكسيل جاما وليس مجموعة الكربوكسيل الفا. والوظيفة البيولوجية لهذا المركب ترجع إلى وجود مجموعة السلفهيدريل (SH) Sulfhydryl group التي تدخل في تفاعلات اكسده واختزال.



شكل ٦ - ١٢

تركيب وتفاعلات البيتيد الثلاثي جلوتاثيون (يُعطى الرمز المختصر G-SH)

كذلك فإن عدداً من الهرمونات هي بيتيدات أو عديد بيتيد، والهرمونات هي رسائل كيميائية تُفرز بواسطة خلايا خاصة أو من الغدد الصماء مثل البنكرياس والغدة النخامية وقشرة الكظر وتُنقل بواسطة الدم وذلك لاستحثاث نشاط خاص في الأنسجة أو الأعضاء الأخرى. فهورمون اوكسيتوسين oxytocin (يحتوى على تسعة أحماض أمينية) يفرز من الجزء الخلفى للغدة النخامية ويستحث انقباضات الرحم. فاسوبريسين vasopressin هورمون آخر يحتوى أيضا على تسعة أحماض أمينية ويوجد في الذكور والإناث ويحدث زيادة في ضغط الدم عن طريق تقلصات الأوعية الدموية السطحية، لكن مهمته الرئيسية هو الحد من إدرار البول ولذلك يُشار إليه أحيانا بالهورمون الضابط للبول. بعض المضادات الحيوية هي أيضا بيتيدات والتي تُبنى بواسطة بعض الكائنات الدقيقة ولكنها سامه للبعض الآخر.

البروتينات تتألف من سلسلة واحدة أو أكثر من عديد الببتيد وتختلف في أوزانها الجزيئية

عدد كبير من البروتينات مثل ميوجلوبين myoglobin تحتوي على سلسلة عديد ببتيد واحدة. والبعض الآخر يتألف من سلسلتين أو أكثر والتي قد تكون متماثلة أو مختلفة، فيتحتوى الهيموجلوبين hemoglobin مثلاً على سلسلتين من نوع واحد وعلى سلسلتين أخريين من نوع مختلف وترتبط سلاسل عديد الببتيد الأربعة فى الهيموجلوبين بواسطة الروابط غير التساهمية. أما فى الإنسولين insulin الذى يتألف من سلسلتين من عديد الببتيد ترتبط السلسلتين برابطتين من الروابط ثنائية الكبريتيد.

يتباين الوزن الجزيئى للبروتينات تبايناً كبيراً، فالسيتوكروم c وهو أحد البروتينات الصغيرة يتألف من سلسلة ببتيدية واحدة تحتوى على ١٠٤ حمضاً أمينياً ويبلغ وزنه الجزيئى ١٢,٠٠٠. من ناحية أخرى فقد يصل الوزن الجزيئى لبعض البروتينات الكبيرة إلى مليون أو أكثر. ويوضح جدول (٦ - ٣) الوزن الجزيئى لبعض البروتينات.

جدول ٦ - ٣

البيانات الجزيئية لبعض البروتينات

الوزن الجزيئى	عدد وحدات الأحماض الأمينية	عدد السلاسل	الوزن الجزيئى
١٢,٠٠٠	١٠٤	١	سيتوكروم c
١٢,٦٤٠	١٢٤	١	ريونيوكلينز (بنكرياس البقر)
١٦,٨٩٠	١٥٣	١	ميوجلوبين (قلب الحصان)
١١,٤٦٦	٥١	٢	أنسولين
٢٢,٦٠٠	٢٤١	٣	كيموتريسين (بنكرياس البقر)
٦٤,٥٠٠	٥٧٤	٤	هيموجلوبين (الإنسان)
١٤٩,٩٠٠	١٢٥٠	٤	جاماجلوبولين
			جلوتامات ديهيدروجينز
١,٠٠٠,٠٠٠	٨٣٠٠	٤٠	(كبد البقر)

تحتوى البروتينات على نسب مميزة من الأحماض الأمينية المختلفة

تحتوى البروتينات على نسب مختلفة من الأحماض الأمينية، فعندما تسمى البروتينات بالأحماض والقواعد تنتج مخلوطاً من الأحماض الأمينية ألفا المختلفة وهى الوحدات البنائية للبروتين، وكل نوع من البروتينات ينتج نسباً مميزة من مخلوط الأحماض الأمينية المختلفة. ويوضح جدول (٦ - ٤) عدد الأحماض الأمينية الناتجة من التميؤ الكامل

جدول ٦ - ٤

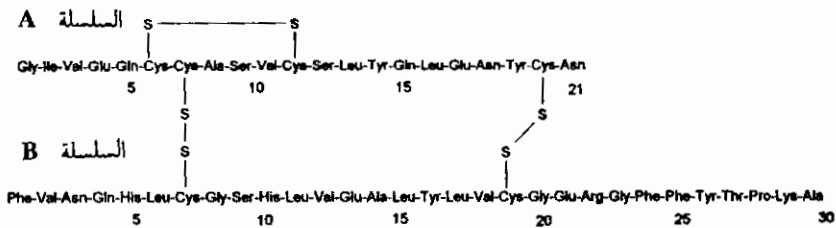
محتوى سيتوكروم c وريونيوكلبيز من الأحماض الامينية

الوزن الجزيئى	سيتوكروم c (الإنسان)	ريونيوكلبيز (البقر)
ألانين	٦	١٢
أرجنين	٢	٤
اسباراجين	٥	١٠
حمض اسبارتيك	٣	٥
سستين	٢	٨
جلوتامين	٢	٧
حمض جلوتاميك	٨	٥
جليسين	١٣	٣
هستيدين	٣	٤
أيسوليوسين	٨	٣
ليوسين	٦	٢
لايسين	١٨	١٠
مثيونين	٣	٤
فينايل ألانين	٣	٣
برولين	٤	٤
سيرين	٢	١٥
ثريونين	٧	١٠
تربتوفان	١	—
تيروزين	٥	٦
فالين	٣	٩
المجموع الكلى	١٠٤	١٢٤

لبروتين سيتوكروم C وبروتين ريبونوكلياز. ومن الملاحظ أنه باختلاف نوعي البروتينات في الوظيفة فإنهما يختلفان أيضاً في العدد النسبي لكل نوع من الأحماض الأمينية. ونادراً ما توجد الأحماض الأمينية العشرين بكميات متساوية في البروتينات، فبعض الأحماض الأمينية قد تتكرر مرة واحدة في الجزيء والبعض الآخر قد يوجد بأعداد كبيرة. بالإضافة إلى ذلك فإن بعض البروتينات قد لا يدخل في تركيبها واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية العشرين.

البروتينات تحتوى على تتابع مميز من الأحماض الأمينية

تمكن فريدريك سانجر F.Sanger عام ١٩٥٣ من التعرف على تتابع الأحماض الأمينية لعديد الببتيد المسمى أنسولين، وكما هو معروف فإن الإنسولين عبارة عن هورمون (شكل ٦ - ١٣). ويعتبر هذا الإنجاز علامة فاصلة وواضحة في الكيمياء



شكل ٦ - ١٣

تتابع الأحماض الأمينية في أنسولين البقر

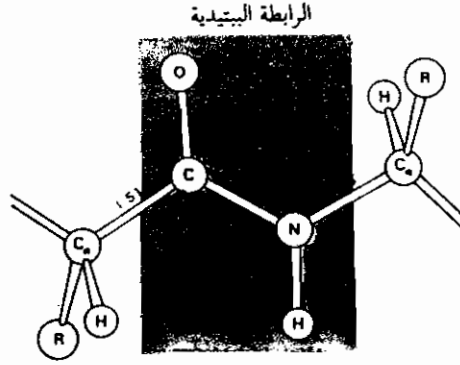
الحيوية لأنه أظهر لأول مرة بأن لجزيء البروتين تتابع دقيق من الأحماض الأمينية. ولقد حفز هذا الإنجاز علماء آخرين لدراسة تتابع الأحماض الأمينية لعدد آخر من البروتينات، وبالفعل أصبح تتابع الأحماض الأمينية لمئات البروتينات معروفاً في الوقت الحالي، حيث إتضح أن لكل بروتين من هذه البروتينات تتابعاً دقيقاً ومتميزاً من الأحماض الأمينية. كما أوضحت الدراسات التي أجريت في نهاية الخمسينات وبداية الستينات بأن تتابع الأحماض الأمينية في بروتين ما يتحدد وراثياً بواسطة الجينات، حيث عُرف فيما بعد أن تتابع النيوكليوتيدات الموجودة في DNA هي التي تقرر التتابع المتتام للنيوكليوتيدات في

RNA والتي بدورها تقرر تتابع الأحماض الأمينية في جزئ البروتين. وترجع أهمية معرفة تتابع الأحماض الأمينية في البروتينات إلى (١) توضيح الأساس الجزيئي لفعالية البروتين الحيوية (٢) معرفة تتابع الأحماض الأمينية والبناء الفراغي ثلاثي الأبعاد للعديد من البروتينات يساعد في الكشف عن القواعد الأساسية التي تتحكم في إنطواء سلاسل عديد الببتيد، ومن ثم يمكن استنباط البناء الفراغي ثلاثي الأبعاد للبروتينات من بيانات تتابع الأحماض الأمينية (٣) والتغير في تتابع الأحماض الأمينية قد يؤدي إلى حدوث قصور في الوظيفة البيولوجية للبروتين أو مرض معين، فمثلا مرضى أنيميا الخلايا المنجلية sickle cell anemia ينتج عن تغيير تتابع حمض أميني واحد في بروتين الهيموجلوبين. وبناءً على ذلك فإن معرفة تتابع الأحماض الأمينية يمثل أحد الأسس التي يبنى عليها علم الأمراض الجزيئية molecular diseases .

الهيئة البنائية لسلاسل عديد الببتيد

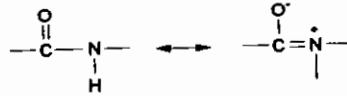
رأينا في الجزء السابق كيف تُشكّل الروابط الببتيدية البناء التساهمي أو الأولي للبروتين، مع ذلك فإن الفهم الكامل لوظائف البروتينات يتطلب معرفة ترتيب سلاسل عديد الببتيد في أبعاد ثلاثة. فتتميز البروتينات الطبيعية بأن لها بناءً فراغياً في ثلاثة أبعاد، فالشكل العشوائي غير المنتظم لسلسلة عديد الببتيد يؤدي إلى فقدان البروتين لفعاليته البيولوجية، وهنالك علاقة وثيقة جداً بين الهيئة البنائية ووظيفة البروتين. ويقصد بالهيئة البنائية con-formation في هذا المجال - ترتيب الذرات في الفراغ في ثلاثة أبعاد.

أوضحت الدراسات التي قام بها العالمان لينس بولنج Linus Pauling وروبرت كوري Robert Corey باستخدام الأشعة السينية على الببتيدات الثنائية والثلاثية أن الوحدة الببتيدية تكون متماسكة ومستوية، كما أن ذره الهيدروجين على النتروجين توجد دائماً في الوضع المخالف trans بالنسبة للأكسجين (شكل ٦ - ١٤). وجد أيضاً أن حرية الدوران حول الرابطة بين ذرة الكربون الكربونيلية وذره النتروجين تكون مقيدة لاحتواء هذه الرابطة على بعض خصائص الرابطة المزدوجة (شكل ٦ - ١٥). بالمقابل فإن



شكل ٦ - ١٤

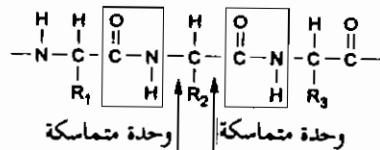
المجموعة الببتيدية هي وحدة متماسكة مستوية. طول الروابط موضحة بالشكل بوحدات الانجستروم (واحد أنجستروم = 10^{-10} متر).



شكل ٦ - ١٥

مجموعة الببتيد تكون مستوية لأن الرابطة بين ذرة الكربون وذرة النتروجين تحتوي على بعض خصائص الرابطة المزدوجة

الرابطة تكون فردية بين ذرة الكربون ألفا وذرة الكربون الكربونيلية، كذلك تكون الرابطة فردية بين ذرة الكربون ألفا وذرة النتروجين. ويترتب على ذلك وجود درجة كبيرة من حرية الدوران حول هاتين الرابطين في كلا طرفي الوحدة الببتيدية (شكل ٦ - ١٦).



حرية الدوران تكون حول هاتين الرابطين

شكل ٦ - ١٦

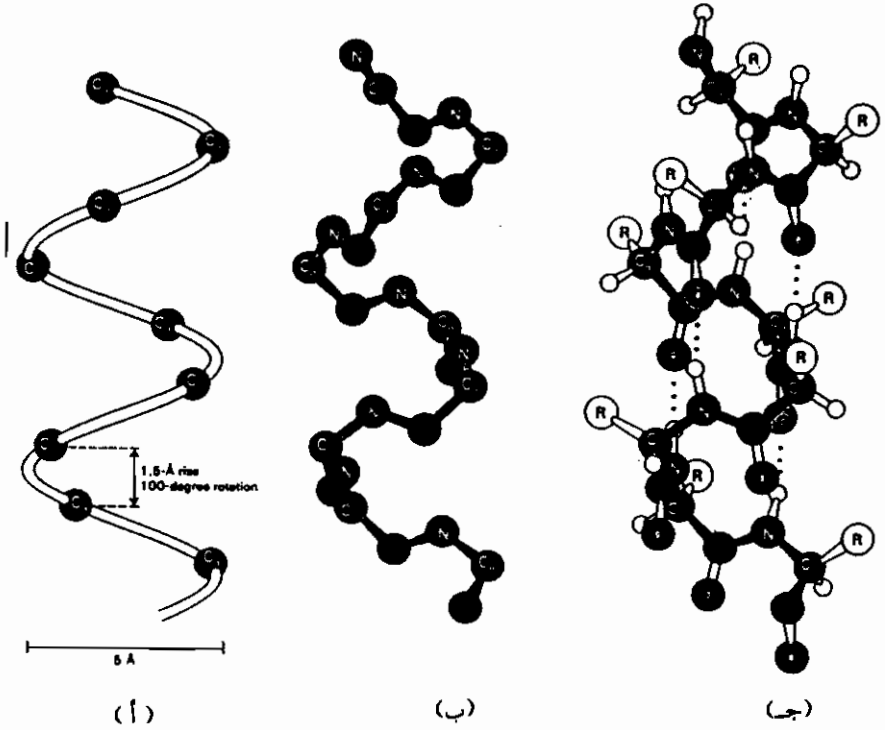
توجد حرية دوران كبيرة حول الروابط التي تربط المجاميع الببتيدية بذرة الكربون ألفا

التراكيب الدورية المنتظمة : الشكل الحلزوني - ألفا والصفحة المنطوية - بيتا

أوضح بولنج وكورى عام ١٩٥١ باستخدام النماذج الجزيئية أن سلسلة عديد الببتيد يمكن أن توجد فى تركيب منتظم الذى يأخذ الشكل الحلزوني الفا α -helix أو الصفائح المنطوية - بيتا β -Pleated sheet. بعد ذلك بست سنوات أمكن إثبات أن الشكل الحلزوني الفا يوجد فى عدد كبير من البروتينات الطبيعية. والشكل الحلزوني - ألفا هو بناء شبه عصوى حيث تلتف السلسلة حول نفسها وتمثل سلسلة عديد الببتيد الرئيسية (عمود الفقرى) الجزء الداخلى، بينما تمتد الجاميع الطرفية - R بعيداً عن محور الحلزون ويوجد هنالك ما معدلة ٣,٦ حمض أمينى فى كل دورة للشكل الحلزوني ألفا (شكل ٦ - ١٧). وتقوم الروابط الهيدروجينية بين مجاميع NH و CO الموجودة فى السلسلة الرئيسية على إضفاء الإستقرار للشكل الحلزوني - الفاء، حيث ترتبط CO فى كل حمض أمينى بواسطة رابطة هيدروجينية بالمجموعة NH للحمض الأمينى الذى ينفصل عنه بثلاثة وحدات حمض أمينى.

هنالك تباين كبير فى محتوى الشكل الحلزوني - ألفا للبروتينات التى لها تركيب ذو بعد ثلاثى معلوم. فمثلا يكون التركيب الرئيسى لبعض البروتينات مثل ميوجلوبين وهيموجلوبين من الشكل الحلزوني - ألفا، بالمقابل لا تحتوى بروتينات أخرى مثل إنزيم الهضم كيموتريسين على الشكل الحلزوني - ألفا. وفى بعض الأحيان قد يلتف إثنين أو أكثر من الخيوط الحلزونية مكونه حلزون - ألفا مضاعف الذى يوجد فى بروتينات مثل كيراتين الفا وهو بروتين الشعر والصفوف والظافر، والكولاجين (شكل ٦ - ١٨) الذى يوجد فى الانسجة الضامة، والميوسين والتريومايوسين الموجودان فى العضلات.

فى نفس العام أى عام ١٩٥١ اكتشف نفس العالمان تركيب دورى آخر أطلق عليه إسم الصفحة المنطوية - بيتا (استعمل الإسم بيتا لأنه التركيب الثانى من ناحية الترتيب الذى اكتشفه العالمان، حيث كان الشكل الحلزوني - ألفا هو الأول فى الترتيب).



شكل ٦ - ١٧

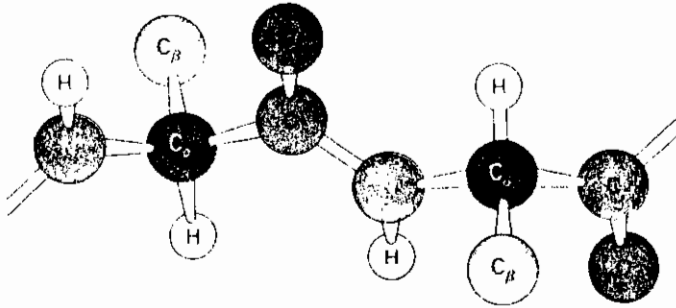
نموذج للشكل الحلزوني - ألفا (أ) يبين ذره الكربون - ألفا في الخيط الحلزوني، (ب) يمثل العمود الفقري للسلسلة الببتيدية المتكون من النتروجين (N) وذره الكربون ألفا (Cα) وذره الكربون الكاربونيلية (C). (ج) الشكل الحلزوني الكامل ويلاحظ فيه الروابط الهيدروجينية بين مجموعات NH و CO والتي تعمل على استقرار الشكل الحلزوني.

تختلف الصفيحة المنطوية بيتا كثيرا عن الشكل الحلزوني - ألفا في أن سلسلة عديد الببتيد في الأول تكون ممتدة (شكل ٦ - ١٩) بينما تكون في الثاني شكل حلزوني، فتكون المسافة بين محوري حمضين أمينيين متجاورين ٣,٥ أنجستروم بالمقابل تكون هذه



شكل ٦ - ١٨

كولاجين عباره عن حلزون ثلاثى يتألف من التفاف ثلاثة سلاسل من عديد الببتيد.

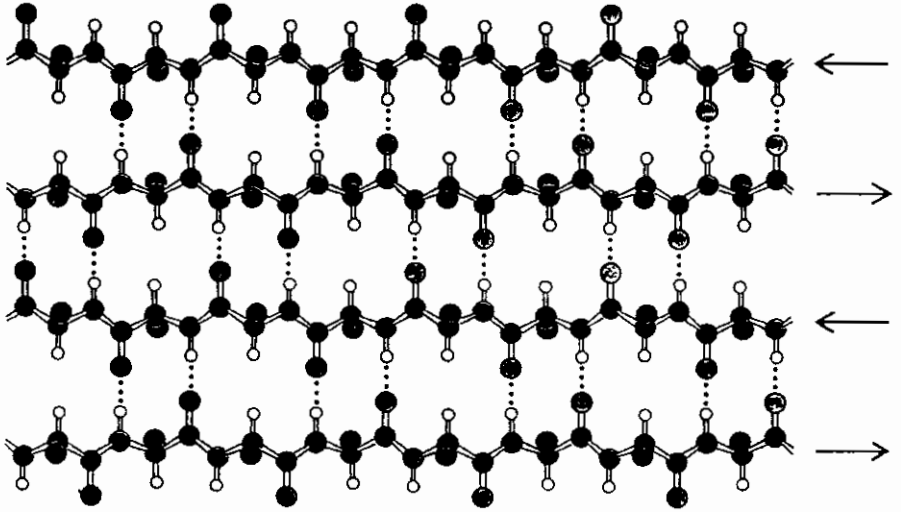


شكل ٦ - ١٩

تركيب ببتيدي ثنائى فى الصفيحة المنطوية بيتا - تكون سلسلة عديد الببتيد ممتده بصورة شبه كاملة.

المسافة ١,٥ أنجستروم فى الشكل الحلزونى - ألفا. وهناك فرق آخر وهو أن إستقرار الصفيحة المنطوية - بيتا تتم بواسطة الروابط الهيدروجينية بين مجاميع NH و CO فى السلاسل الببتيديه المختلفه، بينما تكون هذه الروابط فى نفس السلسلة فى الشكل

الحلزونى - ألفا. ويكون سريان الخيوط المتجاوره فى الصفيحة المنطوية - بيتا إما فى نفس الإتجاه (صفائح بيتا غير المتوازية) أو يكون السريان فى الإتجاه متضاد (صفائح - بيتا غير المتوازية). فمثلا فبريون الحرير silk fibroin وهى مادة بروتينية تُشكّل العنصر الأساسى فى الحرير الطبيعى تتكون عادة من صفائح بيتا غير المتوازية المتراكمة فوق بعضها (شكل ٦ - ٢٠). وهنالك العديد من البروتينات التى تتكون من إثنين إلى خمسة خيوط من الصفائح المنطوية بيتا التى تكون متوازية أو غير متوازية.



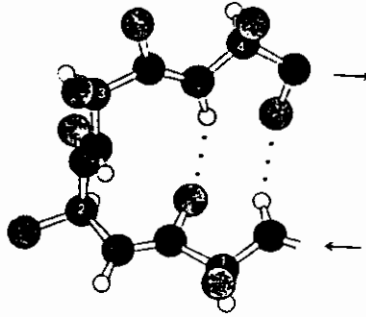
شكل ٦ - ٢٠

الصفيحة المنطوية بيتا غير المتوازية فى فبريون الحرير - تجرى الخيوط المتجاوره فى إتجاهات متضاده وتعمل الروابط الهيدروجينية بين مجاميع NH و CO للخيوط المتجاوره على استقرار هذا التركيب.

عكس إتجاه سلاسل عديد الببتيد بواسطة الدوران - بيتا يؤدى إلى تكوين بروتينات كُرَّيه

بينما تؤدى حرية الدوران حول ذره الكربون ألفا فى سلسلة عديد الببتيد إلى تكوين الحلزونى - ألفا والصفائح المنطوية - بيتا التى تجعل للبروتين هيئة ليفية، فإن الإنطواءات الإضافية الأخرى التى تؤدى إلى عكس إتجاه سلسلة عديد الببتيد مع حدوث تأثير متبادل

بين المجموعات الكيميائية التي تنفصل عن بعضها بمسافات كبيرة تؤدي إلى تكوين بروتين مدمج (كروي) globular Protein . والدراسات التي أجريت على التركيب ثلاثي الأبعاد لعدد كبير من البروتينات أوضحت أن انعكاس اتجاه سلسلة عديد الببتيد يتم بواسطة تغيير طارئ على السلسلة يسمى الدوران - بيتا β - turn (شكل ٦ - ٢١) .



شكل ٦ - ٢١

الدوران بيتا β -turn مجموعة CO للحمض الأميني رقم واحد في الببتيد الرباعي الموضح ترتبط برابطة هيدروجينية مع مجموعة NH في الحمض الأميني رقم أربعة .

في البروتينات المدمجة الكرية فإن المجموعات الطرفية R- غير القطبية للأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد توجد في المناطق الداخلية من الجزيء، بينما توجد المجموعات الطرفية R- القطبية على السطح الخارجى للجزيء وغالبا ما تكون هذه المجموعات مرتبطة بروابط هيدروجينية بجزئيات الماء وذلك في الأوساط المائية. وسلاسل عديد الببتيد في هذه البروتينات تختلف في درجة إحتوائها على الحلزون - ألفا وبعضها قد يحتوى على الصفائح المنطوية - بيتا.

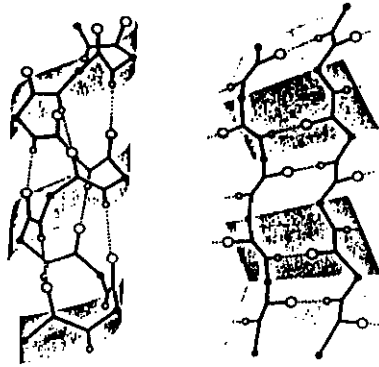
مستويات التركيب فى بناء البروتين

تختلف البروتينات فى بنائها الكيميائى تبعاً للاعتبارات التالية : (١) عدد ونوع الأحماض الأمينية وتتابعها فى سلاسل عديد الببتيد (٢) التوزيع الفراغى للذرات والمجموعات بالنسبة لبعضها فى السلسلة (٣) الشكل والبناء الجسم ثلاثى الأبعاد لجزيء البروتين (٤) إلتصاق جزئيات البروتين ببعضها مكونه تجمعات ذات وزن جزيئى مرتفع .

لذلك فإنه يمكن النظر إلى البناء الكيميائي للبروتين من خلال أربعة مستويات بناء (شكل ٦ - ٢٢) هي: البناء الأولي primary structure ويشير إلى تتابع الأحماض

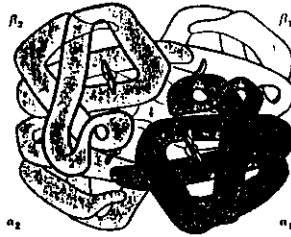


البناء الأولي Primary Structure (تتابع الأحماض الأمينية في سلسلة البروتين)

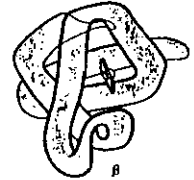


الصفائح المنطوية - بيتا الحلزون - ألفا

البناء الثانوي Secondary Structure



البناء الرباعي Quaternary Structure
أربع سلاسل بروتينية في الهيموجلوبين
تتجمع مع بعضها مكونه بروتين
متعدد الوحدات.



البناء الثالثي Tertiary Structure
سلسلة بروتين كاملة (السلسلة
بيتا في الهيموجلوبين)

شكل ٦ - ٢٢

مستويات البناء في البروتين

الأمينية وارتباطها ببعضها البعض بواسطة الروابط الببتيدية وكذلك مواضع الروابط ثنائية الكبريتيد إن وجدت، ويترتب على ذلك بأن البناء الأولي للبروتين هو وصف كامل للارتباطات التساهمية. البناء الثانوي secondary structure للبروتين يشير إلى العلاقة الفراغية بين وحدات الأحماض الأمينية القريبه من بعضها فى التتابع الخطى، بعض هذه العلاقات الفراغية تكون من النوع المنتظم والتي تؤدي إلى تكوين بناء دورى كما فى نموذج الحلزون - ألفا ونموذج الصفائح المنطوية. البناء الثالثى tertiary structure يشير إلى العلاقة الفراغية بين بواقى الأحماض الأمينية التي تنفصل عن بعضها بمسافات كبيرة فى سلسلة عديد الببتيد، فثنى وطفى سلسلة عديد الببتيد يؤدي إلى تكوين بناء مدمج. ويساعد على إستقرار هذا البناء قوى تجاذب بين المجموعات الطرفية فى السلسلة والتي تشمل الجسور الأيونية كالتى توجد بين مجموعة كربوكسيل من وحده أسبارتات ومجموعة أمينو فى وحده أرجنين، والفعل المتبادل بين المجموعات الكارهه للماء والروابط الهيدروجينية. البروتينات المحتوية على أكثر من سلسلة عديد ببتيد واحدة تحتوى على مستوى آخر من التنظيم البنائى والذي يطلق عليه البناء الرباعى quaternary structure. يشير هذا البناء إلى كيفية إرتباط هذه السلاسل مع بعضها البعض، ويطلق على كل سلسلة عديد الببتيد فى البناء الرباعى بالوحدة الفرعية subunit، كما تعمل الروابط غير التساهمية أيضا على إستقرار البناء الرباعى.

البروتينات يمكن تصنيفها اعتماداً على الشكل أو مستوى البناء

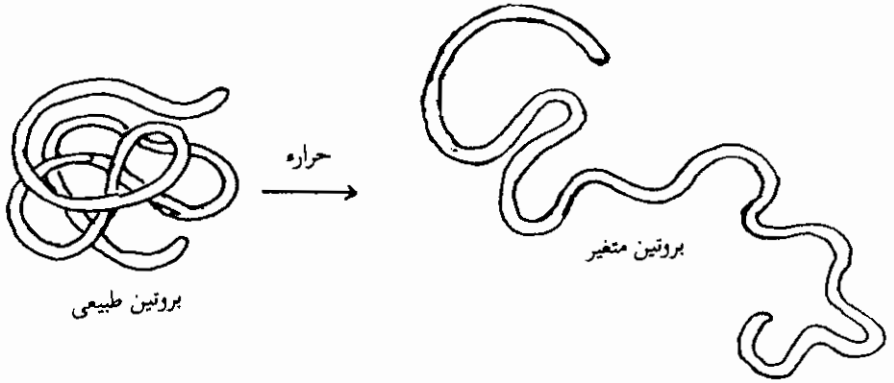
بناء على شكل أو مستوى البناء يمكن وضع البروتينات فى قسمين رئيسيين هما : البروتينات الليفية fibrous proteins والبروتينات الكروية globular proteins. وسلاسل عديد الببتيد فى البروتينات الليفية تكون فى هيئة الحلزون - ألفا أو الصفائح المنطوية - بيتا، وبذلك فإن سلاسل عديد الببتيد تكون منفرطة فى صورة ليفية أو صفائح وغالبا ما يكون لهذه البروتينات دوراً تركيبياً مثل كولاجين الذى يوجد فى الشعر والجلد والأظافر والريش والمواد القرنيه. وهذه البروتينات لا تذوب فى الماء وفى محاليل الأملاح المخففة.

والبروتينات الكروية هى التى تتألف من سلاسل عديد ببتيد مدمجه وتأخذ شكل

كروي أو قطع ناقص وهي بذلك تحتوى على البناء الثالثى أو الرباعى ويكون لهذه البروتينات نشاط حركى كالدور الذى تقوم به الإنزيمات أو تقوم بعملية نقل الجزيئات الصغيرة مثل الاليومين والهيموجلوبين. والجزء الأكبر من بروتينات الأنظمة الحية هي بروتينات كرويّة والتي تذوب فى الأنظمة المائية وتكون لها نفاذية ملحوظة.

تغير طبيعة البروتين الأصلية (الذنتره)

البروتين فى الأنظمة الحية غالبا ما يكون له بناء مجسم ثلاثى الأبعاد والذي يشار إليه بالبناء الطبيعى. وغالبا ما ترتبط الوظيفة البيولوجية للبروتين بهذا البناء المجسم بما فيه من إنشاء وطى والتفاف. وهناك عوامل عديدة تفسد هذا الترتيب الخاص منها التسخين، إضافة حامض قوى أو قاعده قوية أو كحول أو يوريا، وأحيانا يحدث الإفساد بالأشعة فوق البنفسجية أو الأشعة السينية. فتؤدى هذه العوامل إلى إبطال التأثيرات المتبادلة والإرتباطات غير التساهمية وتتحول بذلك الهيئة البنائية للبروتين من الحالة الطبيعية إلى بناء ذى التفافات عشوائيه (شكل ٦ - ٢٣). وهذا الافساد والذي يشار إليه بتغير طبيعة البروتين



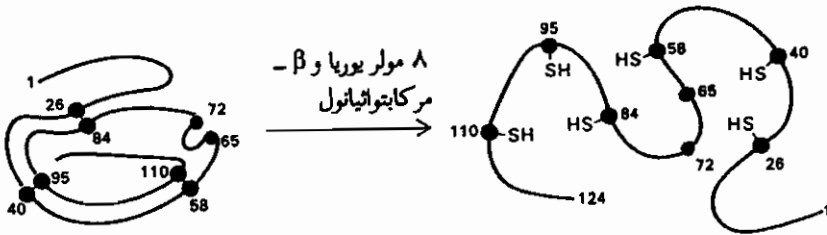
شكل ٦ - ٢٣

تغير الطبيعة الأصلية للبروتين (الذنتره) وتحويله إلى شكل عشوائى غير منتظم. هذا التغير يكون مصحوبا بتفكيك الإرتباطات غير التساهمية.

الأصلية أو الدنتره denaturation يصاحبه هدم البناء الثانوى أو الثالثى أو البناء الرباعى للبروتين. وقد يكون تغيير طبيعة البروتين الأصلية عكسياً أى أنه يمكن للبروتين أن يعود ثانياً إلى حالته الطبيعية بإزالة العامل المؤثر، أو قد يكون هذا التفاعل غير عكسى فلا يعود البروتين إلى بنائه الأصلى.

تتابع الأحماض الأمينية يحدد التركيب ثلاثى الأبعاد

كان لنتائج أبحاث Christian Anfinsen على انزيم الريبونوكليز ribonuclease (وهو الانزيم الذى يفكك الحامض النووى RNA) الأثر الكبير فى التعرف على العلاقة بين تتابع الأحماض الأمينية لبروتين ما وهيئته التركيبية. يتكون الريبونوكليز من سلسلة عديد بيتيد واحدة ويحتوى على ١٢٤ حمض أمينى وأربع روابط ثنائية الكبريتيد disulfide bonds. وعندما تم معاملة الريبونوكليز بواسطة عامل دنتره مثل اليوريا (٨ مولر) وبيتا-مركابتو ايثانول كعامل مختزل الذى يفكك الروابط ثنائية الكبريتيد، فإن سلسلة عديد البيتيد للريبونوكليز تتحول من الهيئة الطبيعية إلى هيئة ذى التفاف عشوائى ومختزله (اختزال الروابط ثنائية الكبريتيد)، كما يوضح ذلك التغير فى اللزوجة وطيف الدوران الضوئى. والانزيم فى الهيئة الملتفة عشوائيا والمختزله يكون مجرد من أى نشاط انزيمى، بمعنى آخر فإن الريبونوكليز قد تدنتر بهذه المعاملة (شكل ٦ - ٢٤).



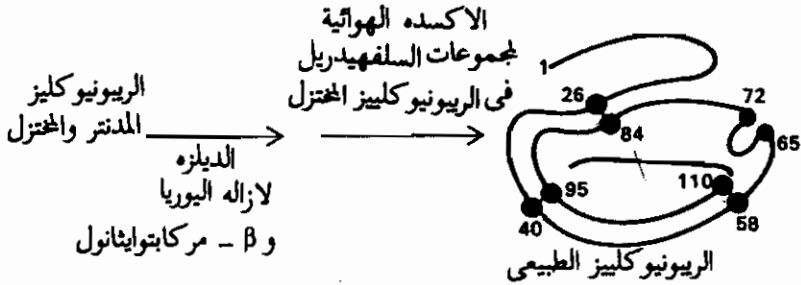
الريبونوكليز الطبيعى

الريبونوكليز المدنتر والمختزل

شكل ٦ - ٢٤

اختزال ودنتره الريبونوكليز

لاحظ Anfinsen أيضا أن إزالة اليوريا وبيتا - مركابتوايثانول بالدليزة dialysis تؤدي إلى استرجاع النشاط الانزيمي ولكن ببطء. وأدرك عندها أن مجاميع السلفهيدريل في الانزيم المدنتر تتأكسد بالهواء وبالتالي يعاد انطواء الانزيم ويستعيد هيئته الفعالة. وأوضحت دراسات لاحقة فيما بعد أنه بالإمكان استرجاع كامل للنشاط الانزيمي الأصلي إذا تمت اكسدة مجاميع السلفهيدريل تحت ظروف مناسبة (شكل ٦ - ٢٥). كما لوحظ



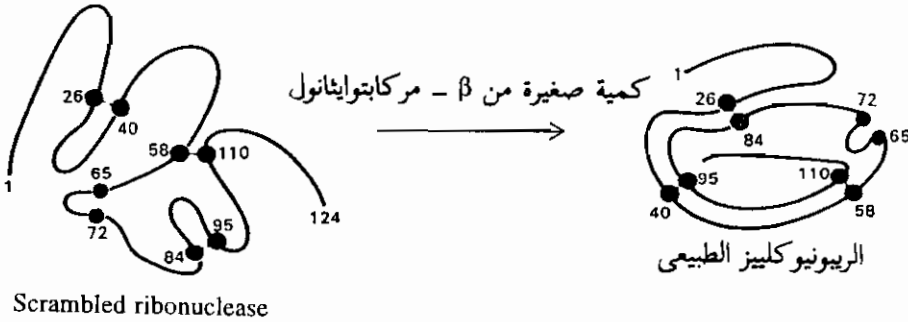
شكل ٦ - ٢٥

ازالة الدنترة renaturation للريونيوكليز

أن الصفات الطبيعية والكيميائية للانزيم الذي استرجع نشاطه (أى الذى اعيد انطواؤه) كانت مشابهة تماما للانزيم الطبيعي. وتوضح هذه التجارب أن المعلومات اللازمة لتحديد التركيب المعقد ثلاثى الأبعاد للريونيوكليز تكون موجودة فى تتابع الأحماض الأمينية لهذا الإنزيم. الدراسات التى اجريت بعد ذلك على بروتينات أخرى أكدت عموميه هذه القاعدة التى تمثل أحد المبادئ الاساسية فى البيولوجيا الجزيئية، أى أن التتابع يحدد الهيئة التركيبية.

تم الحصول على نتائج مختلفة تماما عن المذكورة أعلاه عندما اعيدت اكسدة الريونيوكليز المختزل وهو لازال موجوداً فى محلول ٨ مولر يوريا، بعدها أجريت عملية ديلزة للمستحضر لازالة اليوريا. ووجد أنه نتيجة لاعادة اكسدة الريونيوكليز بهذه الطريقة بأنه يحتوى على ١٪ فقط من النشاط الانزيمى للبروتين الطبيعي. والسؤال الذى طرح نفسه فى حينها، لماذا اختلفت نتائج هذه التجربة عن التجربة التى اعيد فيها اكسدة الريونيوكليز فى غياب اليوريا؟. إن السبب فى ذلك يرجع إلى تكوين روابط ثنائية

الكبريتيد خاطفة عندما اعيد اكسده الهيمه الملتفه عشوائيا والمختزله فى وجود اليوريا. فهناك ١٠٥ طريقة لربط (ازدواج) ٨ جزيئات سستين لتكوين أربعة روابط ثنائية الكبريتيد: وواحدة فقط من هذه الاتحادات تؤدي إلى تكوين الانزيم النشط، أما الازدواجات الـ ١٠٤ الأخرى فقد اطلق عليها مجازاً scrambled ribonuclease. ووجد Anfinsen بعد ذلك ان الـ scrambled ribonuclease تتحول إلى الإنزيم النشط الطبيعي بإضافة كمية قليلة من بيتا - مركابتوايثانول التي وجد أنها تساعد على إعادة ترتيب الروابط ثنائية الكبريتيد حتى يتم الحصول على التركيب الطبيعي (شكل ٦ - ٢٦). ويصاحب تحول هيمه scrambled ribonuclease إلى الهيمه الطبيعية انخفاض فى الطاقة الحرة للنظام. ويبدو من ذلك أن الهيمه الطبيعية للريونوكليز هي أكثر التركيبات إستقراراً من ناحية الحركة الحرارية.



شكل ٦ - ٢٦

تكوين الريبونوكليز الطبيعي من Scrambled ribonuclease فى وجود كمية قليلة من بيتا (β) - مركابتوايثانول

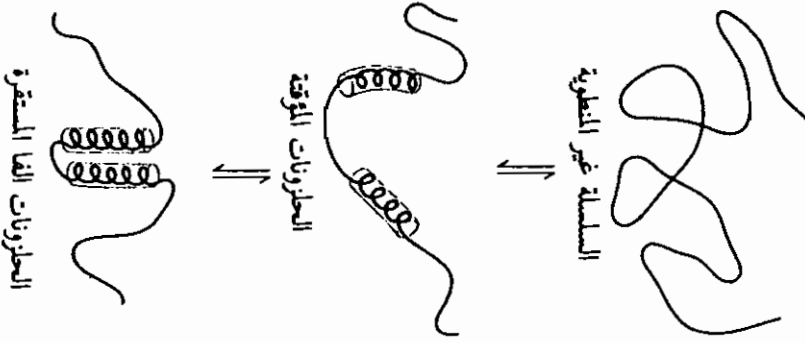
طى البروتينات يتم بواسطة اتحاد الأجزاء الحلزونية - ألفا والخيطية - بيتا

كيف تتحول سلسلة عديد الببتيد غير المنطوية إلى البروتين الكرى المحتوى على انطواءات عديدة؟ أحد الاحتمالات هو أن سلسلة عديد الببتيد تمر بكل الصور التركيبية المحتملة فى محاوله للبحث عن أكثر الصور استقراراً من ناحية الطاقة. كم هو الوقت الذى يستغرق فى هذا البحث (الاستكشاف) العشوائى؟ دعنا نأخذ بروتين صغير يحتوى

على ١٠٠ حمض أميني كمثال، ولنفترض أيضا أن كل حمض أميني يمكن أن يتواجد في ثلاثة صور تركيبية مختلفة. بناء على ذلك فإن العدد الكلي للتركيب الممكنة للبروتين تساوي 100^3 والتي تساوي 10^6 . وإذا فرضنا أن الوقت اللازم للتحويل من تركيب لآخر يقدر بـ 10^{-13} ثانية، فإن وقت الاستكشاف الكلي اللازم للوصول إلى التركيب الأكثر استقراراً يقدر بـ $10^6 \times 10^6 \times 10^{-13}$ ثانية والذي يساوي 10^9 ثانية أو $1,6 \times 10^9$ سنة. لاحظ أن هذا الوقت هو أقل تقدير وذلك لأن لكل حمض أميني أكثر من ثلاثة صور تركيبية، كما أن الوقت اللازم للتحويل من صورة تركيبية للبروتين إلى أخرى هو أكثر من 10^{-13} ثانية. ويبدو من ذلك أن زمن طي البروتين يكون طويل جداً إذا تم بالمحاولة العشوائية لكل الصور التركيبية المتاحة لتحديد أى منها يكون أفضل من ناحية الطاقة.

كيف يمكن إذا طي البروتين خلال عدة ثوانى أو عدة دقائق؟ إن الإجابة على هذا السؤال ليست معروفة بعد، لكن أحد الفرضيات تقترح أن الامتدادات أو الأجزاء الصغيرة للتركيب الثانوى تعمل كوسيط فى عملية الطي. وتبعاً لهذه الفرضية، فإن أجزاء صغيرة (تقدر بـ ١٥ حمض أميني) من سلسلة عديد الببتيد غير المنطوية تتأرجح (تتردد) flicker إلى داخل وخارج هيئة الحلزون - الفا الطبيعي والصفيحة - بيتا. وهذه التركيبات الموقته تلتقى مع بعضها البعض بواسطة الانتشار مكونة معقد الذى يعمل على زيادة استقراريتها (شكل ٦ - ٢٧). مثال ذلك قد يلتقى جزئين حلزون - الفا أو خيطين - بيتا أو شكل حلزونى - الفا مع خيط - بيتا. وهذه المعقدات الفا - الفا ($\alpha\alpha$) وبيتا - بيتا ($\beta\beta$) أو الفا - بيتا ($\alpha\beta$) والتي تعرف بوحدات الطي folding units تعمل كاتوية لزيادة استقرار العناصر المترددة الأخرى فى التركيب الثانوى. وقد تم تدعيم هذا النموذج بأدلة تجريبية متعددة.

أولاً: للأحماض الأمينية المكونه لسلسلة عديد الببتيد دور كبير فى تحديد التركيب الثانوى للبروتين، فتكوين الحلزون - الفا يدعم بواسطة بواقى الأحماض الأمينية جلوتامات ومثيونين والآنين وليوسين، بينما تكوين الصفائح - بيتا يعزز بواسطة بواقى الأحماض الأمينية فالين وأيسوليوسين والتيروزين.



شكل ٦ - ٢٧

الخطوات المقترحة فى عملية طى البروتين. جزئين من سلسلة عديد الببتيد غير المنطوية تكونان الشكل الحزوني الفا بصورة مؤقتة. وهذه الأجزاء الحزونية الفا تثبتت (تستقر) بتكوين معقد بين هذين الجزئين.

ثانيا : فإن الانتقال من الهيئة الملتفة عشوائيا إلى هيئة الحزون - الفا يتم فى أقل من جزء فى المليون من الثانية، وبالتالي فإن الأجزاء الصغيرة من التركيب الثانوى يمكن أن تتكون بسرعة كبيرة.

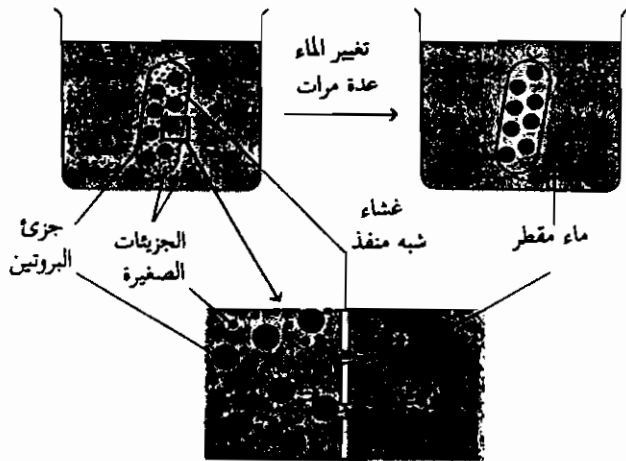
ثالثا : إن وحدات الطى المقترحة (المعقدات $\alpha\alpha$ و $\beta\beta$ و $\alpha\beta$) هى فى الحقيقة عناصر رئيسية فى تركيب البروتين. أن التحدى الذى يواجه البيوكيميائيين الآن هو الكشف والتعرف على التراكيب الوسيطة فى عملية الإنطواء، أى الطرق التى تسلكها سلسلة عديد الببتيد للتحويل إلى بروتين ذو مواصفات معينة ووظيفة محددة.

يمكن تنقية البروتينات بواسطة تقنيات مختلفة

تحتوى الخلايا الحية على مئات إن لم يكن آلاف من أنواع البروتينات المختلفة. ويعتبر فصل وتنقية بروتين ما أحد الخطوات الأساسية فى اتجاه التعرف على تركيب وآلية (ميكانيكية) عمل هذا البروتين. وقد تم حتى الآن فصل وتنقيه عدة آلاف من

البروتينات المختلفة في صورة نقية. وبالإمكان فصل البروتينات عن بعضها البعض وعن الجزيئات البيولوجية الأخرى على أساس الحجم والذوبانية solubility والشحنة والفه الارتباط المتخصص. ولتنقيه بروتين ماء، عادة ما يتم اختبار عدة طرق، ويتم تقييم كفاءة كل طريقة باختبار خاصة معينة للبروتين المراد تنقيته. فالاختبار المستخدم لانزيم ما يعتمد على نشاطه الحفزي المتخصص. كما تقدر كمية البروتين الكلية في المستحضر حتى يمكن تقييم درجة التنقية المتحصل عليها في خطوه ما اثناء الفصل.

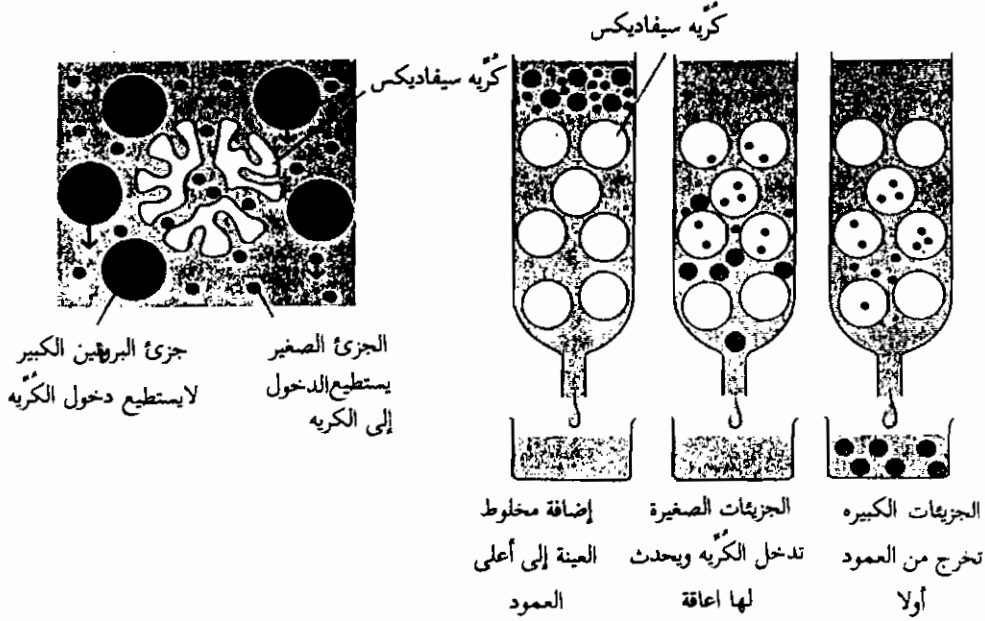
بالإمكان فصل البروتينات عن الجزيئات الصغيرة بواسطة الديليز dialysis خلال غشاء شبه منفذ (شكل ٦ - ٢٨). فالجزيئات التي تكون كتلتها في حدود ١٥ كيلو



شكل ٦ - ٢٨

فصل الجزيئات على أساس الحجم بواسطة الديليز. الغشاء شبه منفذ لكيس الديليز يسمح بعبور الجزيئات المذابة الصغيرة مثل كلوريد الصوديوم والجلوكوز، بينما لا يسمح بمرور الجزيئات الكبيرة مثل البروتين. والجزيئات الصغيرة تتحرك من داخل كيس الديليز إلى الخارج بواسطة الانتشار. ويتغير الماء خارج كيس الديليز عدة مرات فإنه يمكن خفض تركيز الجزيئات الصغيرة بداخل الكيس إلى كمية صغيرة جداً

دالتون تحجز داخل كيس الديليز، بينما الجزئيات الصغيرة والأيونات تمر خلال مسام (ثقوب) غشاء الديليز إلى الخارج. وبالإمكان فصل البروتينات أيضا على أساس الحجم باستخدام تقنيه كروماتوجرافي الترشيح بالجيل gel - filtration chromatography (شكل ٦ - ٢٩). فتوضع العينة المراد فصل مكوناتها على الجزء العلوى لعمود فصل



شكل ٦ - ٢٩

فصل الجزئيات على أساس الحجم بواسطة كروماتوجرافي الترشيح بالجيل. يمرر مخلوط الجزئيات على عمود يحتوى على كريات سيفاديكس ذات مسام دقيقة. الجزئيات الصغيرة تستطيع المرور إلى داخل الكريات ولذلك يحدث لها اعاقه وتتأخر فى معدّل حركتها عن الجزئيات الكبيره التى لا تدخل إلى الكريات.

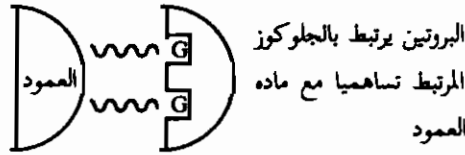
يحتوى على مبلمر كربوهيدراتى غير ذائب ولكنه على درجة عالية من التميّه hydrat-ed، ويوجد فى صوره كريات ذات قطر ١,٠ مم. وهناك عدة مستحضرات تجارية تستعمل لهذا الغرض منها سيفاديكس Sephadex. تتمكن الجزئيات الصغيرة من دخول هذه الكريات، بينما لا تتمكن الجزئيات الكبيره من ذلك، وينتج عن ذلك أن

تتوزع الجزيئات الصغيرة فى كل من المحلول المائى داخل هذه الكريات والمحلول المائى الموجود بين هذه الكريات، بينما تتواجد الجزيئات الكبيرة فقط فى المحلول الموجود ما بين هذه الكريات. ويؤدى ذلك أن تتدفق (تتحرك) الجزيئات الكبيرة بسرعة خلال عمود الفصل وتغادره قبل الجزيئات الصغيرة.

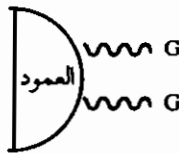
يستعمل كروماتوجرافى التبادل الأيونى ion - exchange chromatography لفصل البروتينات على أساس شحنتها الصافية (النهائية) net charge. فإذا كانت الشحنة الصافية لبروتين ما موجب عند رقم هيدروجينى 7، فإن هذا البروتين سوف يرتبط بعمود التبادل الأيونى المحتوى على مجموعات كاربوكسيليه، بالمقابل لا يتمكن البروتين الذى تكون شحنته الصافية سالبة من ذلك. وبالإمكان بعد ذلك تحرير البروتين الموجب الشحنة من عمود الفصل بإضافة كلوريد الصوديوم أو أى ملح آخر إلى المحلول المنظم المضاف للعمود. فتتنافس أيونات الصوديوم مع المجموع الموجبة الشحنة للبروتين على الارتباط بالمبادل الأيونى فى العمود، ويكون نتيجة لذلك أن تغادر البروتينات ذات الكثافة المنخفضة من الشحنات الصافية الموجبة أولاً وتتبعها البروتينات ذات الكثافة الأعلى من نفس الشحنات، وهكذا. وتؤثر صافى الشحنة لبروتين ما أيضاً على معدل هجرته فى مجال كهربي، كما يتضح فى تقنيه الهجرة الكهربية (الالكترتوريسيس electrophoresis). وتعتبر هذه تقنيه من التقنيات المهمة فى فصل البروتينات، فمثلاً يمكن فصل أكثر من ألف بروتين مختلف من البروتينات الموجودة فى بكتريا القولون فى تجربته واحدة باستخدام الهجرة الكهربية ثنائية الاتجاه.

من التقنيات المهمة الأخرى المستخدمة لفصل البروتينات هى كروماتوجرافى الألفة affinity chromatography. وفى هذه التقنية يستفاد من الألفة العالية للعديد من البروتينات تجاه بعض المجموع الكيميائية المتخصصة. فمثلاً يمكن تنقية أحد البروتينات النباتية المسمى كونكافالين - أ (Concanavalin A) بامرار المستحضر الخام الذى يحتوى على هذا البروتين خلال عمود فصل يحتوى على جزيئات جلوكوز مرتبطة تساهمياً بماده الأساس فى العمود. يرتبط كونكافالين - أ بعمود الفصل وذلك لوجود الفه بين البروتين وجزيئات الجلوكوز، بالمقابل لا تدمص البروتينات الأخرى فى المستحضر الخام

بعمود الفصل. ويمكن بعد ذلك الحصول على كوناكافالين - أ من عمود الفصل بإضافة محلول مركز من الجلوكوز، حيث يقوم الجلوكوز في المحلول بالاحلال محل جزيئات الجلوكوز المرتبطة بالعمود من مواضع الارتباط بالكوناكافالين - أ (شكل ٦ - ٣٠). وبصورة عامة يمكن استعمال كروماتوجرافى الالفة بشكل فعال لفصل بروتين ما له ألفه عالية لمجموعه كيميائيه ما ولنفرض أنها (X) بالصور التالية (١) تُربط المجموعة X أو أحد مشتقاتها تساهميا بماده الأساس فى العمود (٢) إضافة مخلوط البروتينات إلى هذا العمود، ثم غسل العمود مع محلول منظم لازاله البروتينات غير المرتبطة (٣) الحصول على البروتين المرتبط بعمود الفصل (البروتين المفصول) بإضافة تركيز مرتفع من الصورة الذائبة ل-X.



إضافة جلوكوز (G)



شكل ٦ - ٣٠

كروماتوجرافى الالفة لبروتين كوناكافالين - أ على عمود يحتوى على وحدات جلوكوز مرتبطة تساهميا مع ماده أساس العمود