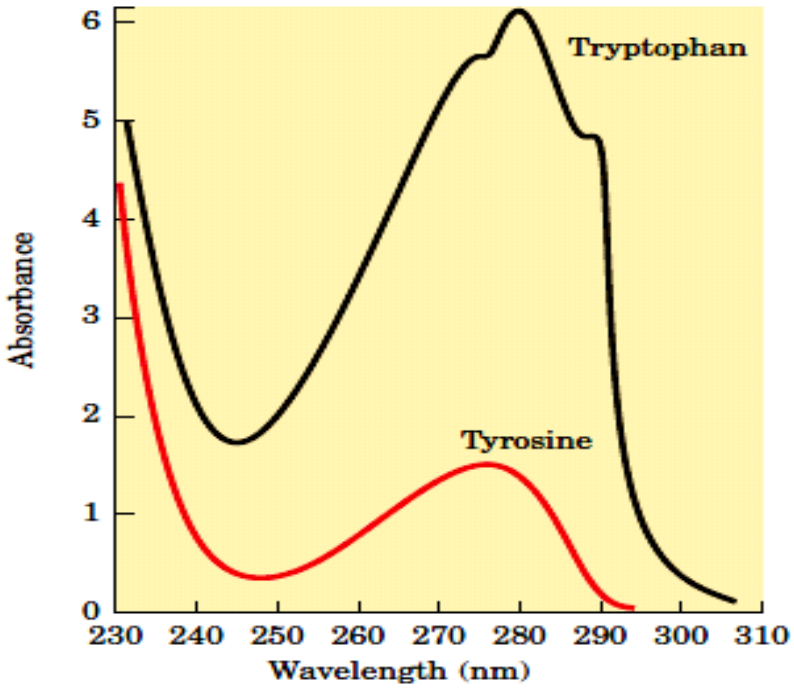
- **طيوف الإمتصاص:**

الحموض الأمينية العشرين الموجودة في البروتينات لا تمتص الضوء في المنطقة المرئية ، فإن ثلاثة حموض الأمينية التيروزين ، تربتوفان ، فينيل ألانين تمتص بشدة في منطقة فوق البنفسجية و بالنسبة لأغلب البروتينات الحاوية على التيروزين يكون قياس امتصاص الضوء عند طول الموجه 280nm بمقياس الطيف الضوئي و سيلة سريعة جدا و مرضية لقياس تركيز محلول بروتيني و جميع الحموض الأمينية تمتص في المنطقة فوق البنفسجية البعيدة .

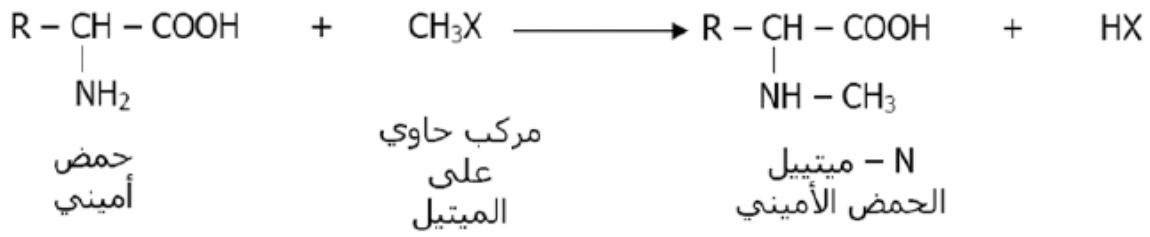



- **<u>الخواص الكيميائية:</u>**

تمتلك الأحماض الأمينية ، كما و جدنا، على مجموعات وظيفية هي المجموعات الوظيفية الكربوكسيليه ألفا و الأمينية ألفا و تلك الموجودة في السلاسل الجانبية R. و تحدد هذه الوظائف نمط التفاعلات الكيميائية التي تدخلها الأحماض الأمينية، حيث يمكن لكل من هذه الوظائف أن تشارك في كل التفاعلات الكيميائية المميزة له. وتشمل هذه التفاعلات على تفاعلات الزمرة الكربوكسيلية كالتأين و تشكيل أميدات ....إلخ. كما تضم أيضاً تفاعلات التأين و ألكلة و أسيلة للزمرة الأمينية ، و أكسدة و ألكلة زمرة الثيول و أسترة و فسفرة زمرة الهيدروكسيل.....إلخ.

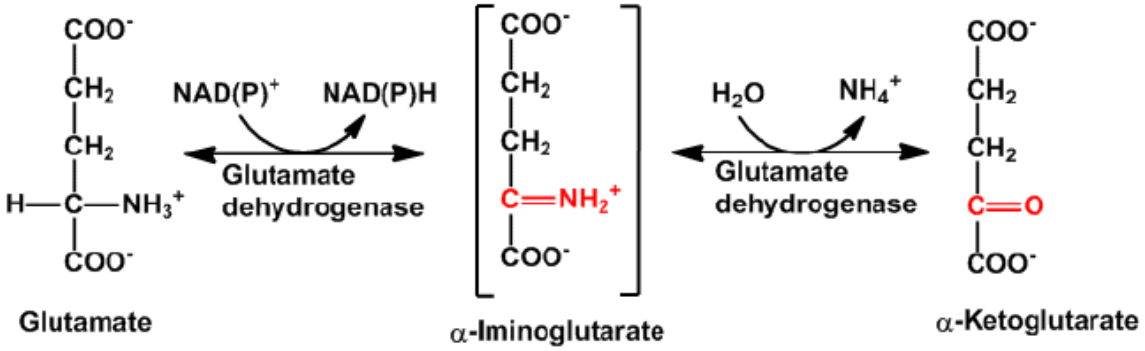
**1- التفاعلات الزمرة الامينية :** تعتبر المجموعة الأمينية كاشف نيكليوفيلي قويا بسبب وجود زوج الكتروني حر و خواصها تكون متمائلة سواء كانت مجموعة الأمين في الموقع ألفا أو في السلسلة الجانبية للحمض الأميني و سنتطرق لأهم تفاعلاتها:

- **المتيلة:** يمكن لذرات الهيدرجين المجموعة الأمينية أن تستبدل بجذور المتيل ، حيث يمكن ان نحصل على مشتقات N- أحادية الميتيل أو N- ثنائية الميتيل أو N- ثلاثية الميتيل . تدعى المركبات الغنية بالجذور الميتيلية بالبيتائينات Betaines و هي من المركبات الواهبة لمجموعة المتيل . حيث يقوم الكبد بعمليات إزلة السمية في الجسم عن طريق متيلة المركبات السامة الداخلة إلى الجسم لتتحول إلى مركبات أسهل طرحاً



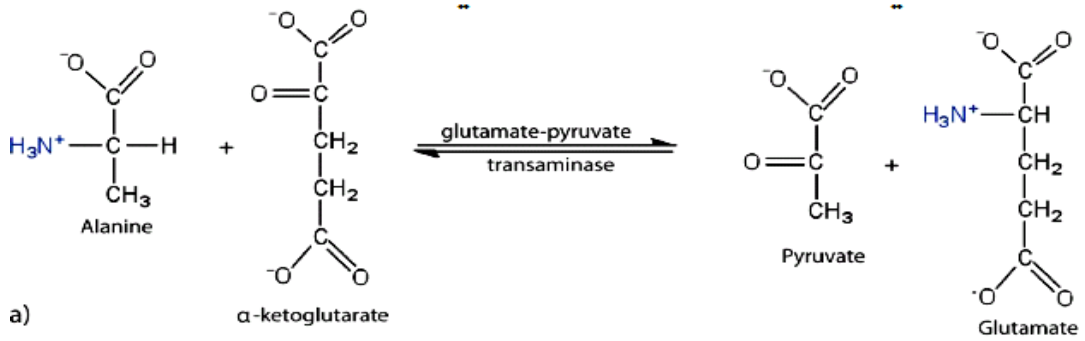

- نزع الأمين التأكسدي Desamination oxidative:

إن عملية نزع أمين التأكسدي للغلوتامات تتم في الكبد و الكلية عند الإنسان و تحفز بواسطة إنزيم نازع الهيدرجين الغلوتامات Glutamate dehydrogenase و الذي يحتاج إلى $NAD^+$ محولاً إياه إلى ألفا – كيتو غلوتارات و الأمونيا




- نقل الأمين ( Transamination )

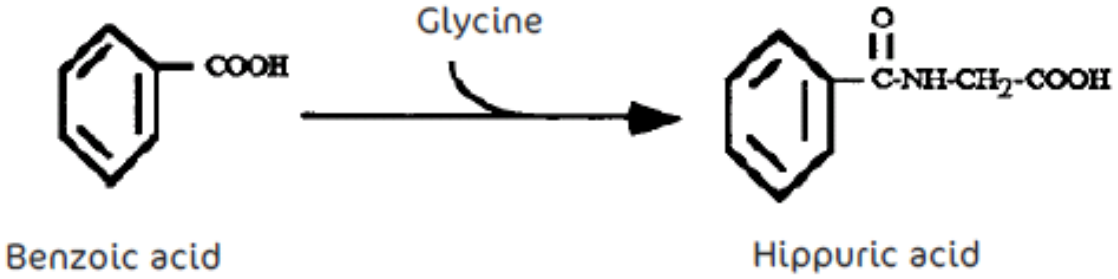
تتعرض الحموض من نوع ألفا-كيتو حمض الموجودة في الخلايا لبعض التحولات ، التي تؤدي إلى اصطناع حموض أمينية جديدة ، عن طريق نقل زمرة أمينية من حمض أميني آخر كما هو موضح بالتفاعل التالي



يتم ذلك بوجود الإنزيم Transaminase و يرافق عمله فيتامين البيرودوكسال فوسفات ( B6). نلاحظ أن البيروفات هو الحمض ألفا-الكيتوني المرافق للألانين و أن حمض ألفا –كيتو غلوتارات هو الحمض الكيتوني الموافق للغلوتامات.

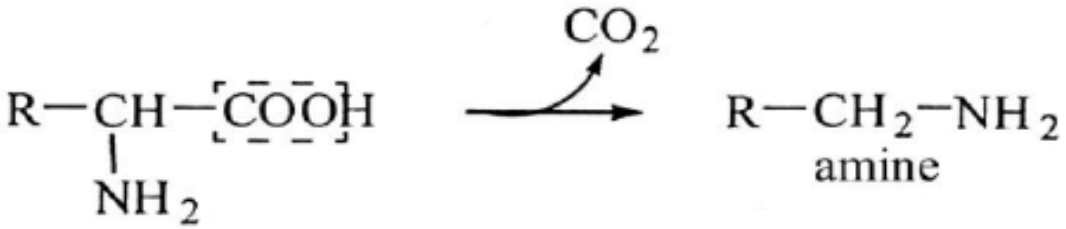
- تفاعل الحمضنة أو نزع السمية :

يعتبر هذا التفاعل أساس عمليات لتخليص الجسم من المواد السامة و طرحها خارج الجسم . حيث يتم في الكبد ربط المركب الأوروماتي مثل حمض البنزوئيك إلى الزمرة الأمينية للحمض الأميني الغلايسين Gly ليشكل مركب منزوع السمية ليتمكن الجسم من طرحه عبر الكلى إلى خارج الجسم.



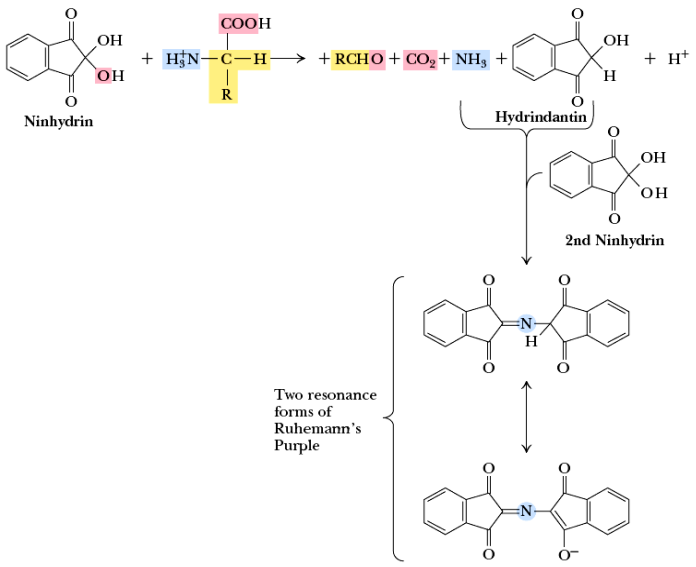

2- تفاعل نزع الكربوكسيل:

يمكن لهذا التفاعل أن يجرى في المختبر ، لكنه يحدث لإنزيميا في الخلايا الحية و يفضي ألى تشكيل أمينات تدعى الأمينات المتناقلة . إن هذا التفاعل يتم بوجود إنزيم دي كريوكسيلاز Decarboxylase الذي يتواجد في بكتريا الأمعاء و في النسج الحيوانية و المرافق الإنزيمي هو البيرودكسال فوسفات . إن الأمينات المتناقلة ذات أهمية بيولوجية مثل دوبامين الناتج عن دوبا أو السيروتونين الناتج عن نزع الازمرة الكربوكسيلية للحمض الأميني التربتوفان . بينما يتنج عن نزع زمرة الكربوكسيل للهستيدين المركب الهيستامين.

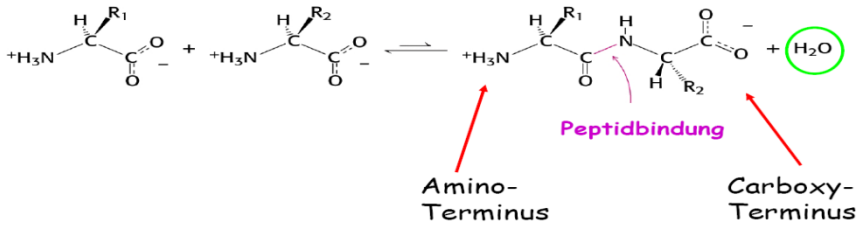



**3- التفاعلات الناجمة عن وجود الزمرتين الأمينية و الكربوكسيلية معاً :**

- **التفاعل مع النـنهدرين** أن لهذا التفاعل أهمية كبيرة لأنه تفاعل لوني و مستخدم بشكل كبير لكشف و معايرة هذه المركبات حيث يعطي مركبا بنفسجي مع الحموض الأمينية ما عدا البرولين و هيدروكسي البرولين يشكلان معقدات صفراء معه.



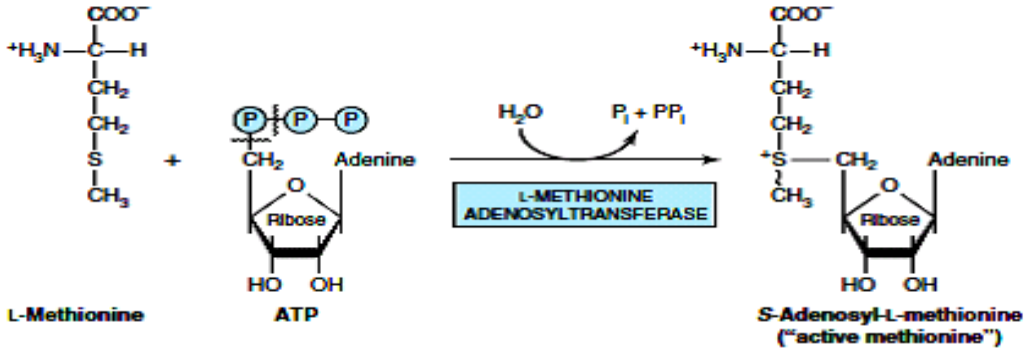

- **التفاعل مع الشوارد المعدنية** تتفاعل كربونات أو خلات النحاس مع الحموض الأمينية في المحاليل المائية وتعطي لونا أزرق والمعقد الناتج هو ناتج عن ارتباط النحاس مع الزمرة الكربوكسيلية فقط بينما الارتباط مع الأزوت يتم بوساطة روابط تساندیه.
- **تشكيل الروابط الببتيدية:** ويتم تشكيلها بحذف جزيء ماء بين المجموعتين المتجاورتين من $NH_2$ و COOH العائدين لحمضين أمينيين لتشكيل ثنائي ببتيد.




**4- التفاعلات الناجمة عن وجود زمرة وظيفية في السلسلة الجانبية R:**

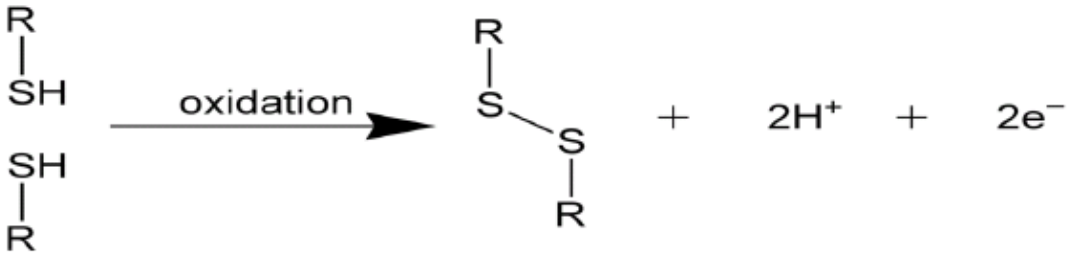
من الواضح – بسبب كون جميع الوظائف ألفا –الكربوكسيلية و ألفا –الأمينية تقريبا للحموض الأمينية مستركة في روابط ببتيدية – أن السلاسل الجانبية ( R ) هي التي تضفي بشكل أساسيب خواصها الكيميائية على الببتيدات و البروتينات و منها

- تفاعلات نقل الميتيل Transmethylation: في هذه التفاعلات يلعب الميتيونين الفعال S-adenosyl methionins دوراً واهب لزمرة الميتيل لتشكيل مركبات أخرى هامة بيبولوجياً و ذلك في تنظيم التعبير الجيني ، في اصطناع كل من الكرياتين ، الاييينفرين ، الميلاتونين، الساركوزين ، كارنيتين، استقلاب المواد الغريبة ، تشكيل القلنسوة عند النهاية ( 5̀-Cap ) ل mRNA. حيث يتشكل المتيونين الفعال من تكاثف الميتيونين مع ال ATP.




- **تشكيل الرابطة ثنائية الكبريت Disulfide Bond:**

الزمرة الثيولية للسيستئين Cys يمكن أن تتأكسد و تشكل الجسور ثنائية الكبريت و هي تكون هامة من أجل من أجل البنية الثالثية للبروتينات و كذلك سنشاهدها في بنية بعض الببتيدات

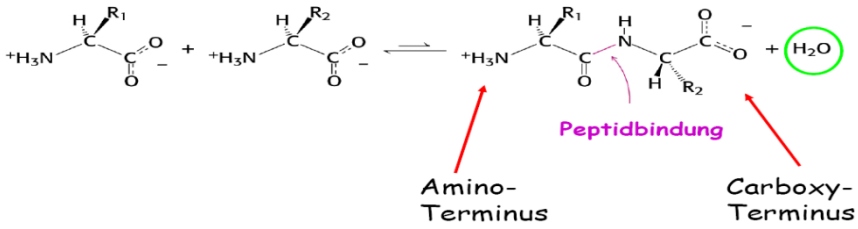



- **تفاعلات زمرة الهيدروكسيل :**

يمكن أن تتأستر بحمض الفوسفور الزمرة الهيدروكسيلية للبروتينات الحاوية الحموض الأمينية ( التيروزين ، السيرين)

# الببتيدات Piptides

هي جزيئات حيوية تنتج عن عملية تكاثف بين الزمر الأمينية لحمض أميني ما مع الزمرة الكربوكسيلية لحمض أميني أخر، عبر رابطة تكافؤية تسمى بالرابطة الببتيدية أو الربطة الاميدية و ذلك بعد حذف جزيئة ماء.




تصنف الببتيدات إلى

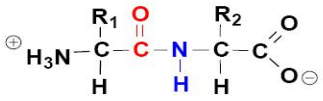
✓ قليلة التعدد Oligopeptides عبارة عن ببتيدات ثنائية ، ثلاثية .....حتى 10 ثمالات من الحموض الأمينية.

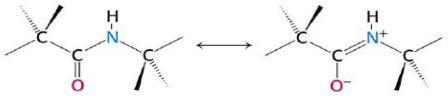
✓ كثيرة التعدد Polypeptides ترتبط ثمالات الحموض الأمينية مع بعضها حتى 100 حمض أميني

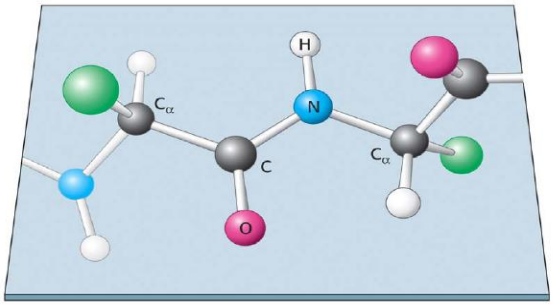
**2- خواص الببتيدات:**

- إن الرابطة الببتيدية تكون بشكل أساسي مستوية في الفراغ ، أي توجد ست ذرات من الرابطة الببتيدية المشكلة للثنائي الببتيد ( مكون من ارتباط حمضين أمينيين) في نفس المستوي:
  - ذرة الكربون ألفا و الزمرة CO للحمض الأميني الأول
  - الزمرة NH و ذرة الكربون ألفا للحمض الأميني الثاني

- ساعدت الدراسات التي قدمها Pauling و زملائه بأشعة السينية لجزء من البروتين في وصف بنية الرابطة الببتيدية. أن طول الرابطة بين الزمرة CO و NH تساوي 1.32 Å وهذه القيمة تتوسط القيم المتوقعة لطول الرابطة الأحادية C-N ( 1.49 Å) و الربطة المضاعفة بين الكربون و الآزوت C=N ( 1.27 Å) لذلك تتميز الرابطة الببتيدية ببنية طنينية تؤدي إلى رابطة مضاعفة مميزة لا تستطيع الدوران حول نفسها فأما الروابط الأحادية المجاورة للرابطة الببتيدية فتكون حرة الدوران.

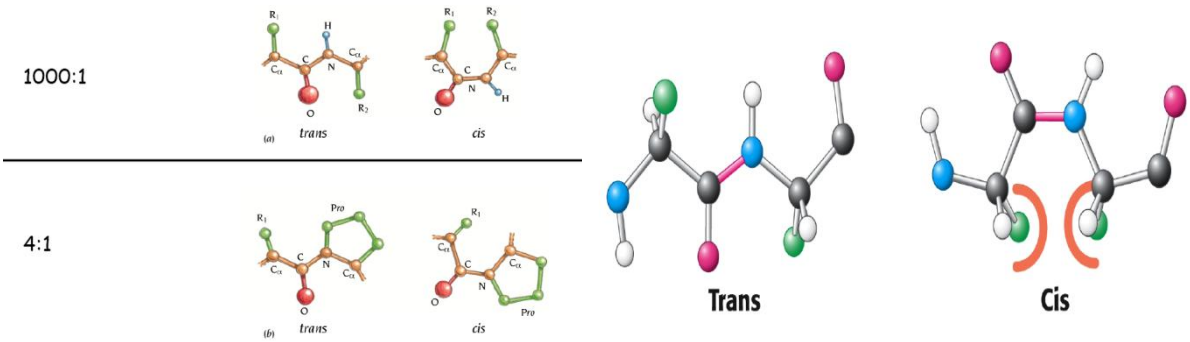




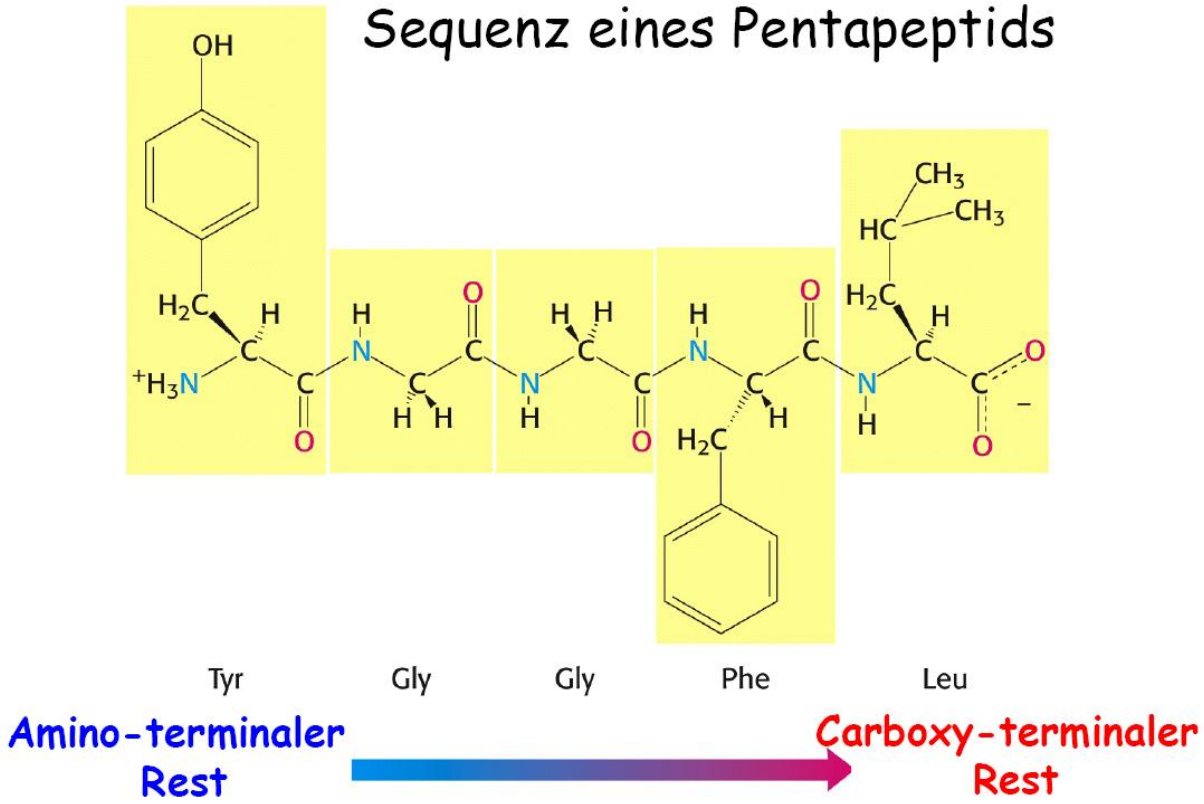
Bindungslängen:
C-N 1.45 Å
C pep N 1.32 Å
C=N 1.25 Å

و بالتالى تملك الرابطة المستوية تكونين محتملين في الفراغ هما : التكوين المفروق (Trans) و التكوين المقرون (Cis ). تكون غالبية الروابط الببتيدية في البروتينات (عدا برولين) ذات التكوين المفروق.



## 2.2 متعدد الببتيد

هو ارتباط عدد من حموض أمينية مع بعضها بروابط ببتيدية، عندما يكون عدد الحموض الأمينية قليلة ( أقل من 10 حمض أميني ) فيطلق عليها بال Oligopeptidesأوقليل التعدد وللتبسيط يدعى بالببتيد. ولقد اتفق على أن سلسلة متعدد الببتيد تبدأ اعتباراً من اليسار من الحمض الأميني الذي يملك زمرة أمين حرة لذلك يطلق عليها بالنهاية الأمينية(النهاية N)، وتنتهي سلسلة متعدد الببتيد بالحمض الأميني الذي يملك زمرة الكربوكسيل حرة لذلك تدعى بالنهاية الكربوكسيلية ( النهاية C). ولتسمية الببتيدات يستبدل الحرف الأخير (ن) في الحمض الأميني الذي فقد زمرته الكربوكسيلية بالنهاية (ل) ويحافظ الحمض الأميني الأخير (النهايةC) الذي حافظ على زمرته الكربوكسيلية على اسمه.

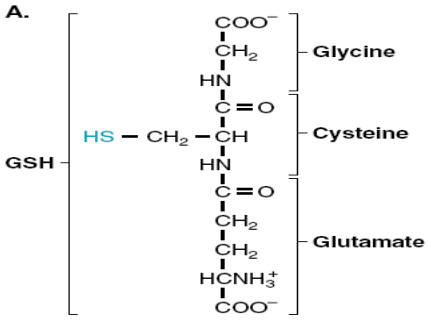



مثال يدعى الببتيد المؤلف من خمس حموض أمينية الموضح بالشكل تيروزيل- غليسيل- غليسيل- فينيل ألانيل- لوسين.

### 3. بعض الببتيدات ذات فعالية حيوية:

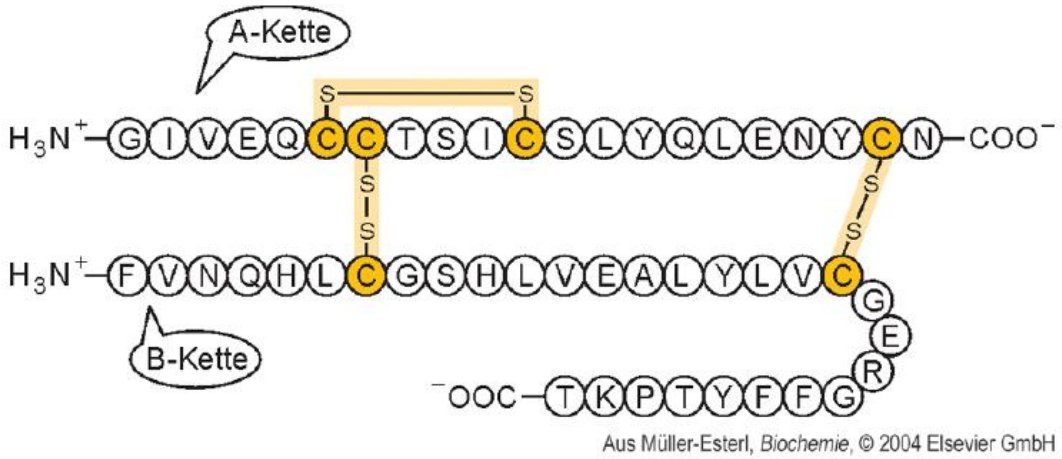
تحوي الخلايا الحيوانية والنباتية و الجرثومية مجموعة متنوعة جداً من عديدات الببتيد ذات الوزن الجزيئي المنخفض ( المؤلفة من 3-100 ثمالة حمض أميني) حيث لهذة المركبات ذات فعالية حيوية بالغة الأهمية.

**الغلوتاتيون Glutathione:** ويرمز له GSH وهو غاما-غلوتاميل-سيستئيل- غليسين ، ينظم تفاعلات الأكسدة و الإرجاع في الخلايا، ويهدم الجذور الحرة المخربة من خلال تفعيل العوامل المؤكسدة، وهو ضروري لاظهار فعالية الانسولين، يتواجد في الدم و العضلات والخميرة وفي معظم خلايا الجسم الحي.

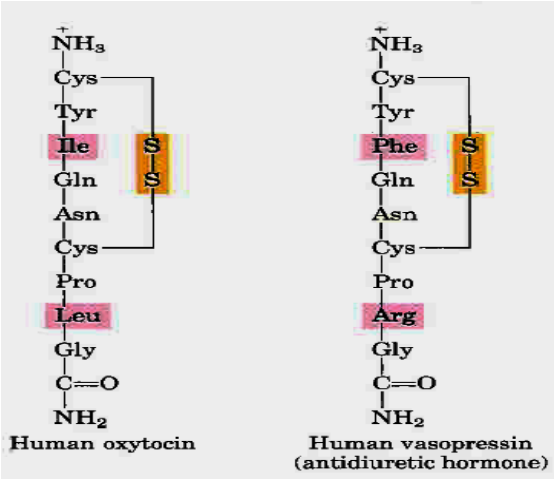



δ-glutamyl-cysteinyl-glycine

**الأنسولين Insulin** : إنه هرمون نقص سكر الدم يتم اصطناعه في البنكرياس و يتألف من سلسلتين ببتيديتين يرتبطان مع بعضهما البعض بواسطة جسرين كبريتي تحوي السلسلة A على 21 حمض أميني و يرتبط الحمض الأميني السادس مع الحمض الأميني الحادي عشر بجسر كبريتي بين ثمالتي سيستئين . بينما تحوي السلسلةB على 30 حمض أميني . إن صيغة الإنسولين لا تحوي على حمضي الأمينين التربتوفان أو المميتيونين. أن تسلسل الحموض الأمينية في الإنسولين عند الحيوانات الأخرى مشابه لأنسولين البشري ما عدا الحموض الأمينية8 و 10 في السلسلة A و الحمض الأميني 30 في السلسلة B.



**هرمونات الغدة النخامية الخلفية:** تفرز هذه الغدة هرمونين الأوكسيتوسين Ocytocynine و الفازوبريسين Vassopressin و هي عبارة عن ببتيدات تحوي تسع حموض أمينية و تركيبها كالتالي :




نلاحظ أن الفرق بينهما حمضين أمينيين هما اللويسين و الإيزولوسين في الأوكسيتوسين بينما في الفازوبريسين الفينيل ألانين و الآرجنيين أنه من المفيد التنويع إلى أن اختلافات بنيوية زهيدة تترجم باختلافات هامة في الفعالية البيولوجية، في الواقع فإن الأوكسيتوسين يحرض تقلص العضلة الرحمية في حين أن الفازوبريسين يرفع الضغط الدموي و يملك تأثيرا مضادا لادرار البول

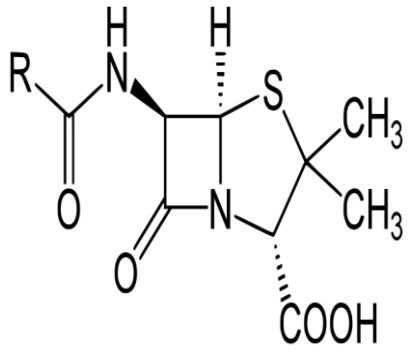
**الكاليدين:** يتألف من عشرة حموض أمينية، يعد من مركبات خافضة لتوتر العضلات الملساء و خافضة للتوتر الشرياني

**Lys**-Arg-Phe-Pro-Ser-Phe-Gly-Pro-Pro-**Arg**

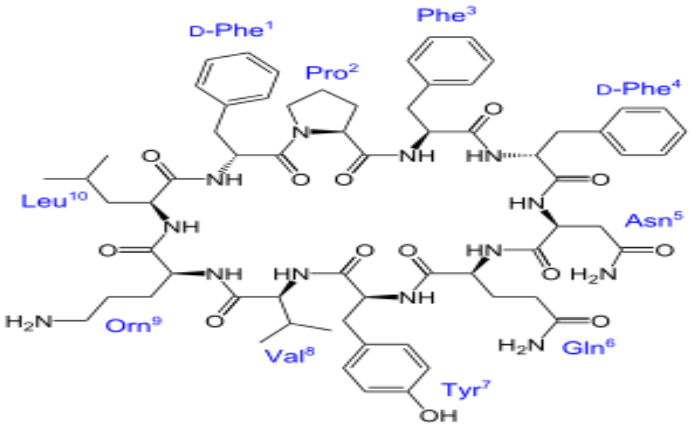
**البراديكينين Bradykinine** : يعيق الإفراز المعوي و قدرة الترك المعوية ويحرض الالياف في الآلام و يسلك دورا وسيطيا في التفاعلات الإلتهابية، يتألف من تسعة حموض أمينية

**Arg**-Phe-Pro-Ser-Phe-Gly-Pro-Pro-**Arg**

**المضلدات الحيوية ذو البنية الببتيدية:** تم تحضير مثل هذه المركبات من المزارع البكتيرية و تحتوي غالبا على حموض أمينية من المجموعة D و تبدي غالبا تركيبا حلقيا و يعرف عدد كبير منها ذات فعالية كبيرة و منها : التيروثريسين، البنسلين ، الغراميسيدين .




**Pencillium**




**Tyrocidine A**

# البروتينات Proteins

**1- مقدمة:**

البروتين ( Protein) اسم مشتق من الكلمة اليونانية ( Proteios) و تعني المكان الأول. و إذا م ا قارنا عدد الحموض الأمينية التي تشكل البروتينات بعدد الأحرف الأبجدية التي تشكل لغة بكاملها تربط علاقات ملايين من البشر ، عرفنا أهمية هذه البروتينات وتعدد إمكانيات تشكلها في الطبيعة وتعرف البروتينات كيميائيا بأنها بوليميرات متشكلة من اتحاد حموض أمينيه أو ببتيدات متعددة تربط بعضها ببعض مشكلة سلسلة ضخمة.
تتواجد البروتينات في جميع الكائنات الحية ، وتشكل ( 55-60 ) % من مكونات جسم الكائن .
تصنف البروتينات بعدة طرق تبعاً ل:

- ❖ للتركيب وتقسم على قسمين:
  ١) بروتينات بسيطة ومؤلفة فقط من حموض أمينية مثال ألبومين المصل
  ٢) بروتينات معقدة: وتتألف من جزيء بروتيني مرتبطا معه جزء غير بروتيني ( يدعى الضميم) وينتمي إلى هذه الفئة: بروتينات سكرية ( مثال الحليب)، بروتينات شحمية ، بروتينات نووية، بروتينات صباغية ، بروتينات معدنية، وأخيرا بروتينات فوسفورية.
- ❖ للشكل الفراغي:
  ١) بروتينات ليفية: مثل الكولاجين ، الميوزين، الكيراتين.
  ٢) بروتينات الكروية: أنزيمات ، ألبومينات، غلوبولينات
- ❖ للوظيفة الحيوية: مستقبلات حيوية ، بروتينات مناعية، بروتينات ناقلة. بروتينات وسائطية، بروتينات هيكلية بنيوية.
- ❖ التصنيف بدلالة الإنحلالية: وهو محدود الاستخدام في الكيمياء الحيوية السريرية و تصنف إلى:

- الألبومينات Albumins: الحلولة في الماء و المحاليل الملحية إنها تترسب بواسطة إضافة كبريتات الأمونيوم بين 70-100% من الاشباع ، وتكون نقطة التعادل الكهربائي أقل من السبعة ( ألبومين الموجود في البيض 4.7 و ألبومين المصلي 5.3) وهي تعد من بروتينات البسيطة و تلعب دوراً هاماً في الحفاظ على الضغط الحلولي للدم و تنقل الشحوم و الفيتامينات غير الذوابه بالماء و الجزيئات غير الحلولة في الوسط المائي و له أهمية في الضغط الجرمي ( الغرواني) على الوعاء الدموي .
- الغلوبولينات Globulines: تذوب بصورة ضعيفة في الماء ، لكن تذوب في المحاليل الملحية الممددة ( مثلاً 5% من NaCl ) و لكنها تترسب بمحلول كبريتات الأمونيوم ذو تركيز 50%. وهي

من بروتينات الكروية تتواجد في بياض البيض و النسج العضلي و بلازما الدم و تمثل مجموعة من بروتينات مناعية و إنها غالبا عبارة عن بروتينات سكرية أو بروتينات شحمية.

- البروتامينات Protamines و الهيستونات Histones: أنها تذوب في المحاليل الملحية و حلوله بشكل ضعيف نسبياً في الماء ، مميزة بصفة قلوية واضحة جداً و يعزى ذلك لوجود نسبة مرتفعة من الحموض الأمينية القلوية مثل الليزين و الآرجنين مما يضفي عليها نقطة التعادل الكهربائي مرتفعة ( حوالي 11 ) و بسبب هذه الخاصية القلوية فإنها تستطيع أن تتحد مع عدة مركبات حمضية ( حموض النووية و بروتينات الحمضية)

- البرولامينات ( الغلايدينات) Prolamines: أنها بروتينات نباتية تمتاز بغناها بحمض غلوتاميك و البرولين وهي غير حلولة في الماء أو في المحاليل الملحية و لكنها تذوب في الكحولات.

- الغلوتيلينات Glutelines: هي من بروتينات النباتية و تكثر في الطحين لا تنحل في المحاليل الملحية أو الماء و لكن تذوب في المحاليل الحمضية أو الأساسية الممددة.

## 2- طرق فصل البروتينات المصلية:

يكون الحصول على بروتين نقي من جناسة خلوية عملا طويلا وصعبا بشكل عام ، لأنه إلى جانب البروتين المطلوب عزله توجد في أغلب الأحيان عدة مئات من البروتينات الأخرى ذات الخواص الكيميائية المماثلة إلى حد كبير و لفصل البروتينات المصلية فإن الطرق الأكثر استعمالاً هي:

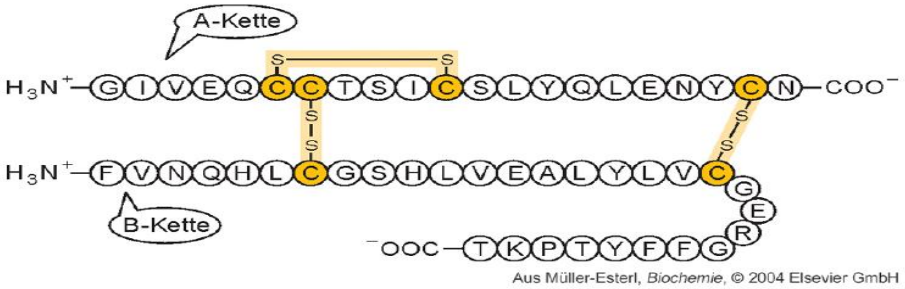
- ✓ الترسيب بواسطة الأملاح المعتدلة : و يستعمل في اغلب الأحيان كبريتات الأمونيوم لأنها شديدة الانحلال، حتى في درجات الحرارة المنخفضة.
- ✓ الترسيب عن طريق التثفيل الفائق
- ✓ الاستشراب اللوني ( كروماتوغرافيا)
- ✓ الاستشراب اللوني فائق الأداء ( HPLC ) و هي أفضل الطرق المستخدمة حيث يعطي فكرة عالية الجودة عن تركيب بروتين معين
- ✓ الرحلان الكهربائي:يتم الاستفادة في الرحلان الكهربائي من خاصتي وحدة الشحنة و الكتلة للبروتينات و يتالف حهاز الرحلان الكهربائي بشكل عام من
  - مسرى كهربائي موجب تتجه إليه البروتينات السالبة الشحنة حسب كتلتها الجزيئية.
  - مسرى كهربائي سالب تتجه إلية البروتينات التي تحمل شحنة موجبة حسب كتلتها الجزيئية.
  - ثقوب ( آبار) مكان توضع فيه العينة المراد فصلها و العينة المعلومة للمقارنة
  - محلول موقي و جيل اغاروز أو أسيتات السيللوزأو بولي أكريل أميد ....

و أخيرا يستخدم الرحلان الكهربائي في التشخيص التفريقي للحالات المرضية .

## 3- البنى البروتينية Protein structures:

### البنية الأولية Primary Structure

وهي البنية التركيبية الرئيسية في البروتين ، تشكل تتالي الحموض الأمينية بتسلسل معين وحسب شيفرة وراثية لتقوم بتحديد هوية البروتين باعتمادها على الروابط الببتيدية و الجسور الكبريتية



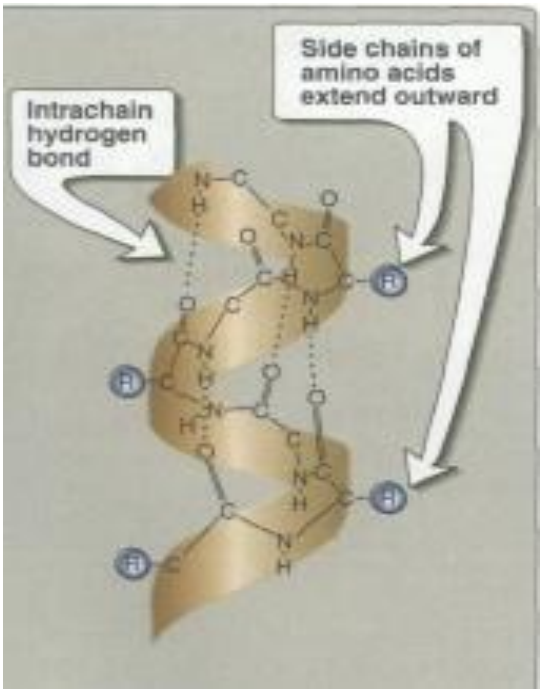

إن فهم البنية الأولية للبروتين هام جداً لأن كثير من الأمراض الوراثية تؤدي إلى تشكيل بروتينات تحتوي على شذوذ في تسلسل حموضها الأمينية و بالتالي فقدان أو خلل في وظيفة البروتين الطبيعية و عند معرفة البنية الأولية للبروتينات الطبيعية و الطافرة يمكن لهذه المعلومات أن تفيد في دراسة المرض و تشخيصه.

### البنية الثانوية Secondary Structure:

إن العمود الفقري لعديد الببتيد لا يتخذ شكل بنية عشوائية ثلاثية الأبعاد ، بل يشكل تشكيلات منتظمة من الحموض الامينية التي تتوضع قرب بعضها بشكل متسلسل خطياً، و بما أن الروابط الأحادية المحيطة بالرابطة الببتيدية تتميز بسهولة الدوران مما يمكن البروتين على الانطواء في الفراغ ليأخذ بنية ثلاثية الأبعاد. هذا الانطواء الناتج من ارتباط الحموض الأمينية القريبة من بعضها في البنية الأولية للبروتين يعبر عنها بالبنية الثانوية. وتتجلى في بنيتين وهما الحلزون α α-helix و الوريقة المثناة β β-sheet

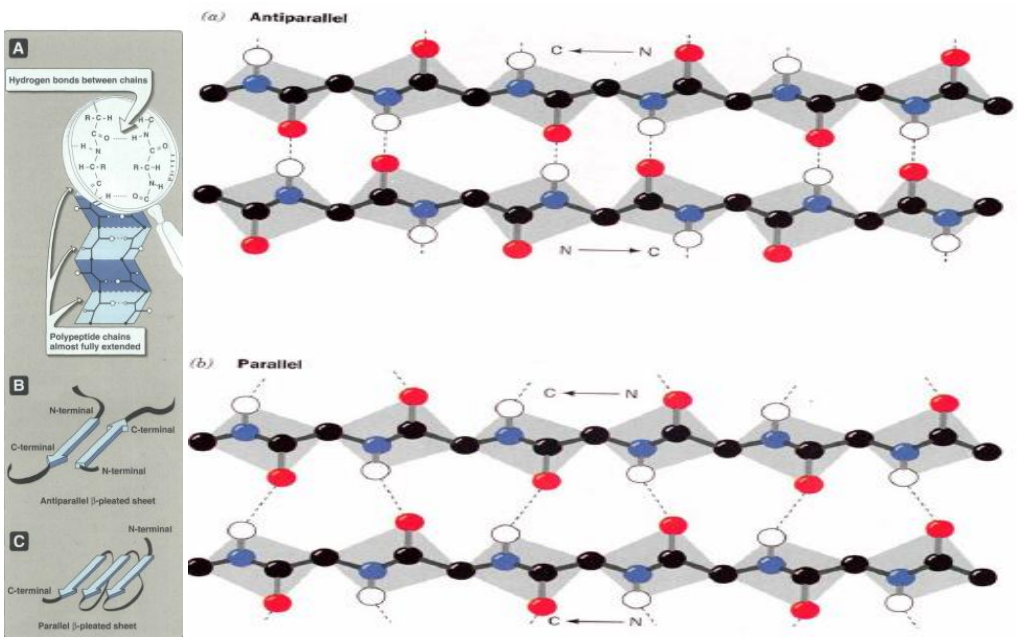
**الحلزون ألفا:** قام العالمان باولينغ و كوري بتصنيع عديد الببتيد و حل الببتيد بالماء المقطر ثم تبخير الماء بالتجميد و تحت ضغط منخفض للحصول على الببتيد و دراسته بالأشعة السينية فوجدا أن البنية هي على شكل حلزون و و دعيت الفا لأن أول بنيه ثانوية قد أكتشفت .و بالتالي الحلزون الفا شكله حلزوني و يكون اتجاه التفاف فيه يمكن أن يكون نحو اليمين ( أي اتجاه عقارب الساعة) أو إلى اليسار غير أن الحلزون يميني الالتفاف هو المفضل طاقياً. يستقر الشكل الحلزون ألفا بوساطة الروابط الهيدروجينية بين الزمر : الزمرة الأمينية و الزمرة الكربونيلية المشكلة للرابطة الببتيدية بحيث يرتبط هيدروجين آزوت الزمرة الببتيدية للحمض الأميني الأول مع أوكسجين الكربونيل للزمرة الببتيدية للحمض الأميني الرابع. و تكون السلسة الجانبية R للحموض الأمينية تتجه إلى خارج الحلزون مكسبة إياه خواص الكاره للماء. تحتوي كل لفة من الحلزون ألفا على 3.6 حمض أميني.

هناك حموض أمينية تشوه بنية الحلزون α مثل البرولين لأن المجموعة الأمينية فيه لا تتناسب هندسياً مع البنية الحلزونية للحلزون –α و لذلك فهو يشكل خلل أو إلتواء في السلسلة يؤثر على البنية الحلزون كما أن الكثير من الحموض الأمينية المشحونة ( ومثالها الغلوتامات و الأسباراتات والهيستدين و الليزين و الآرجنين ) تسبب تشوهاً في الحلزون نتيجة تشكيلها لروابط أيونية أو بسبب التنافر الكهربائي الساكن فيما بينها و أخيرا يمكن لبعض الحموض الأمينية ذات السلاسل الجانبية الضخمة مثل التربتوفان و الفالين و إيزولوسين



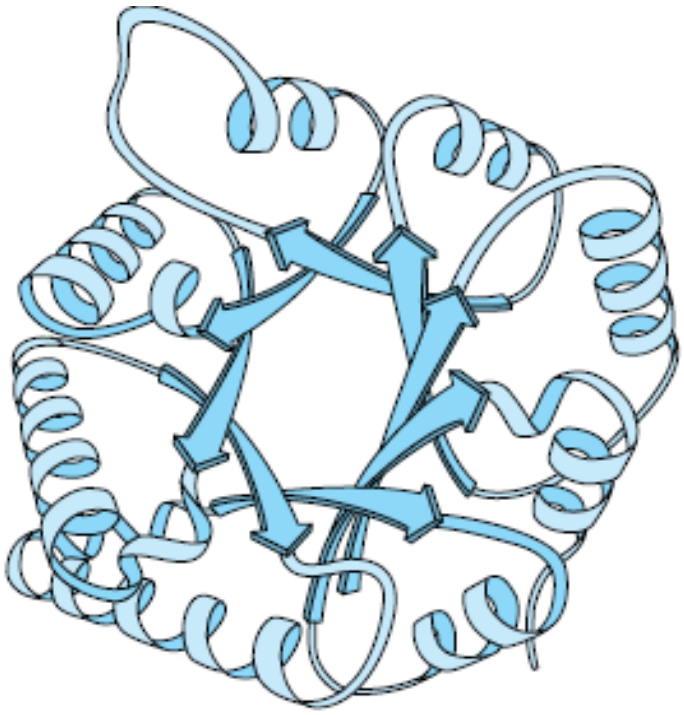

## الوريقة المثناة ( β-sheet):

وهي شكل آخر من البنية الثانوية للبروتين تتكون الوريقة المثناة ( وتدعى أيضا الصفيحة بيتا المطوية) من اتحاد سلسلتين ببتيديتين أو أكثر متوازية بوساطة روابط هيدروجينية و تكون الروابط الهيدروجينية متعامدة مع العمود الفقري الهيكلي لعديد الببتيد. عندما تكون هذه السلاسل باتجاه واحد فيتشكل لدينا الصفيحة بيتا المتوازية Parallel β Sheet، أما إذا كانت هذه السلاسل باتجاهين متعاكسين فيتشكل حينها ما يسمى الصفيحة بيتا المتعاكسة أو الغير متوازية Antiparallel β Sheet



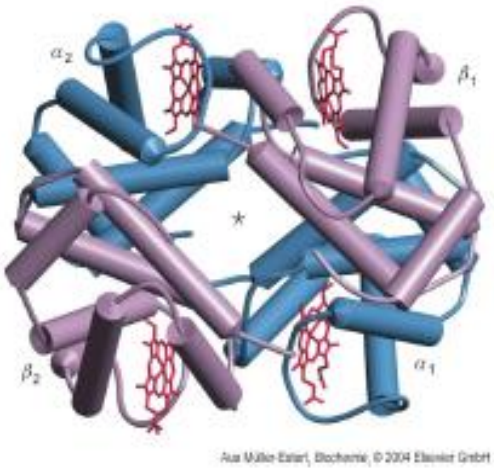

## البنية الثالثية Tertairy Structure

وهي الشكل الهندسي أو التوضع الفراغي للسلاسل الببتيدية للبروتين وتعتمد على الروابط الكبريتية، الروابط الهيدروجينية، تداخلات الكارهة للماء، قوى فاندرفالس، تداخلات الكهربائية الساكنة هذه العوامل التي تساعد في تشكيل البنية الثالثية للبروتين تحددها زمر السلاسل الجانبية للحموض الأمينية الداخلة في تركيب البروتين.



## البنية الرابعية Quaternary structure:

تتكون معظم البروتينات من سلسلة واحدة من عديد الببتيد و تعرف بكونها بروتينات وحيدة القطعة monomeric إلا أن بعض البروتينات الأخرى قد تتكون من أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة وتدعى كل سلسلة ببتيدية في هذا النوع من البروتينات بتحت الوحده أو القسيمة بروتينية Subunit. و تتجمع تحت الوحدات مع بعضها البعض عن طريق تفاعلات غير تكافؤية ( الروابط الهيدروجينية ، التجاذب الأيوني ، التفاعلات الكارهة للماء ) فمثلا نلاحظ في بنية البروتين الهيموغلوبين انه مؤلف من أربع وحدات ( 4 Subunit) ، اثنين من هذه الوحدات تكون متناظرتان يطلق عليهما بوحدتي ألفا أما الوحدتين الأخرتين فتدعيان بالوحدتين بيتا.




## 4- تمسيخ البروتينات:

يمكن للقوى الضعيفة نسبياً، المسؤولة عن تماسك كل من البنية الثانوية و الثالثية و الرابعية أن تتخرب بسهولة عن طريق تأثير عدد من المعالجات، مما يؤدي إلى فقدان الف عالية الحيوية . لذلك تعرف هذه العملية بتمسيخ الهيئة الفراغية لبروتين أو تمسيخ البروتينات. تتلخص عملية تمسيخ الجزيء البروتيني من الناحية الفيزيائية، بتغير في الهيئة الفراغية للسلسلة عديدة الببتيد وبدون أي تغير في البنية الأولية لهذا البروتين.

وتحدث عملية التمسيخ بشروط معينة:

- **الحرارة المرتفعة:** فهي تؤدي إلى فك الروابط الهيدروجينية بسبب الطاقة الإهتزازية العالية التي تؤمنها.
- **الأشعة الفوق البنفسجية** لها تاثير مشابه للحرارة
- **الحركة الميكانيكية** مثل الخفق أو التحريك السريع للمحلول البروتيني يؤدي إلى كسر الروابط الهيدروجينية.
- **استخدام مركبات كيميائية** و نذكر على سبيل المثال:

البولة و كلوريد الغوانيدين اللذان يساهمان في فك الروابط الغير تشاركية مثال تؤدي البولة إلى ترسيب البروتينات المنحلة و ذلك بتنافسها على تشكيل الروابط الهيدروجينية.

بيتا ميركابتو إيتانول الذي يساهم في إرجاع السستين إلى السيستئين أي فك الجسور الكبريتية.

بعض المحلات العضوية مثل الإيتانول و الأسيتون تساهم في فك الروابط التشاركية و الكهربائية الساكنة، حيث تعدل الزمر المشحونة و تؤدي إلى ترسيب البروتين.

- **الحموض و الأسس** التي تغير في ال PH الوسط للمحلول البروتيني حتى الوصول إلى نقطة التعادل الكهربائي وذلك يؤدي إلى فك الروابط بين الزمر المتشردة و تغير بنية البروتين وهذا يؤدي إلى ترسيبه.

قد يحدث التمسيخ بشكل عكوس أي تعود بنية البروتين إلى طبيعتها ضمن شروط مناسبة أو يكون التمسيخ غير عكوس (( تحدث الحرارة الشديدة تغيرا غير قابل للعكس مثال مسخ بياض البيض))

## 5- بنية ووظيفة بروتين:

سوف نتعرض في هذه الفقرة الدراسة العلاقة المتبادلة ما بين الوظيفة و البنية للجزيئات البروتينية في حالتها السوية ( أو في حالتها الشاذة) و نبين كيف أن هذه العلاقة هي الأساس في تحقيق الوظائف الحيوية الخاصة بالجزيئات البروتينية. يمكن تصنيف البروتينات حسب الشكل العام إلى:

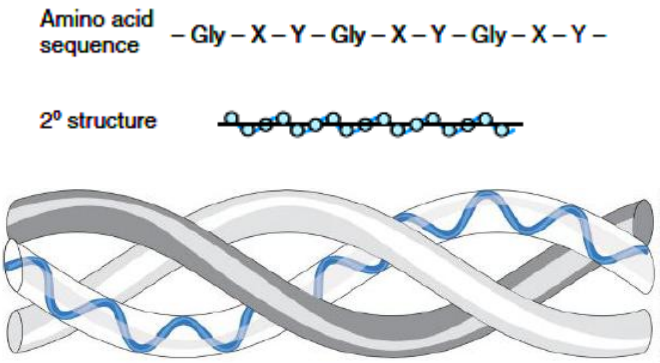
### ❖ بروتينات ليفية:

هي بروتينات تحوي جزيئات طويلة حتى أنها في بعض الحالات تشكل ليفا وتلعب دورا هاما في الوظائف التركيبية للجسم فهي تتواجد في الجلد، الأنسجة الرابطة، جدران الأوعية الدموية ، القرنية،.... و تقدم مزايا ميكانيكية خاصة ناتجة عن تركيبها الاستثنائي الناتج عن اتحاد حموض أمينية محددة و منتظمة و تقسم هذه البروتينات إلى بروتينات تنحل في المحاليل القلوية المشبعة و بروتينات لا تنحل.

## الكولاجين:

هو أكثر البروتينات توافرا عند الثدييات، يوجد في جميع الأعضاء خاصة الجلد ، الغضروف، رباط العظم، أوتار العضلات، محيط الأوعية ، العظم و الأسنان. حيث تم التعرف على أكثر من 19 نمط من الكولاجين في النسج الثدييات و التي تتكون من حوالي 30 سلسلة ببتيدية متميزة يقابلها في الذخيرة الوراثية العدد ذاته من الجينات الوراثية الرامزة للكولاجين و وجوده في الأنسجة يعطيه دور هام في تحديد الخصائص الفيزيائية لتلك الأنسجة . نوع الكولاجين و طبيعته دوراً في خصوصية العضو الموجود فيه فيمكن أن يكون منتشرا أو مبعثراً على شكل

هلام في الخلط الزجاجي للعين، و على شكل حزمة متراصة كما في الأوتار و الأربطة النسيجية، بينما على شكل ألياف متعامدة في العظام لتكسبها المقاومة الضرورية. الكولاجين بروتين غير منحل، يتألف من ثلاث سلاسل ببتيدية من نوع ( α-Chains) بحيث تكون ملتفة على شكل حبل ثلاثي الحلزون ( Triplehelix).

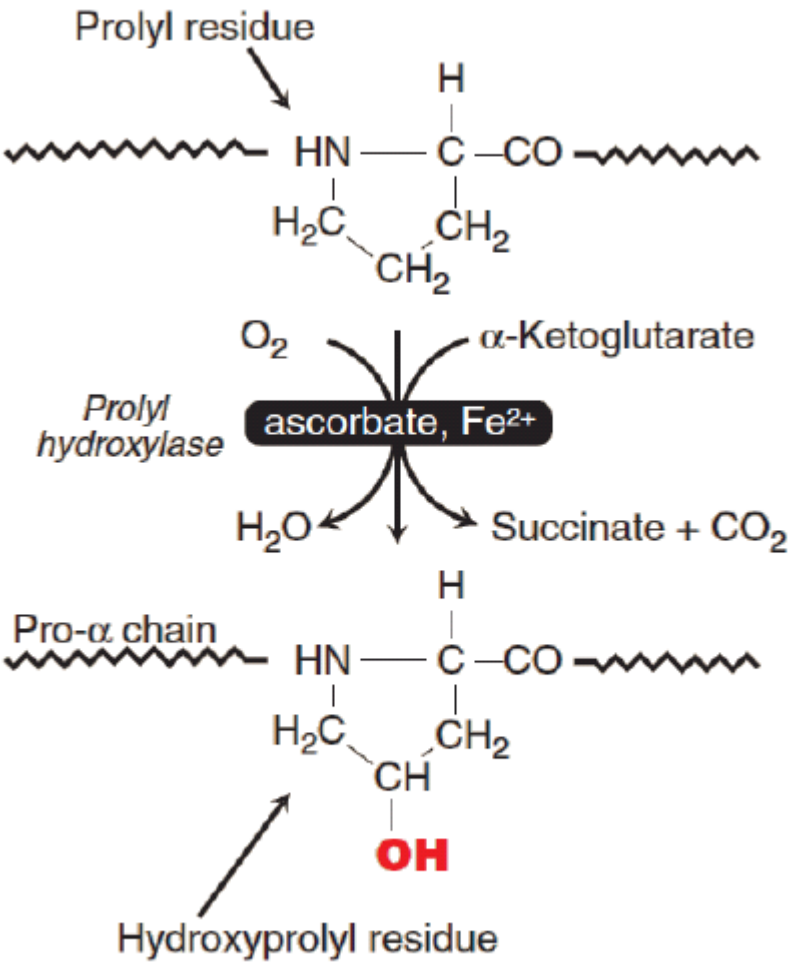



الشكل 2: شكل حبل ثلاثي حلزوني للكولاجين

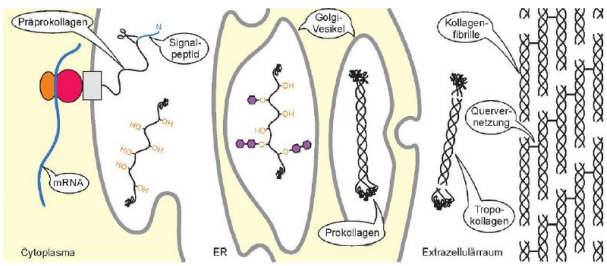
إن الكولاجين غني بالحمضين الأمينيين ( Gly) و ( Pro) وهما مهمان لتكوين الحلزون الثلاثي الخيطي ( الأول كونه أصغر حمض أميني، و الثاني تركيبه الحلقي). و يكون تركيب السلاسل الببتيدية ( α- Chains) عبارة عن ببتيدات ثلاثية متعاقبة من الشكل ( Gly-X-Y) حيث: X هي غالبا ما تكون ( Pro) ، Y هي غالبا ما تكون ( Hyp) هيدروكسي برولين أو ( Hyl) هيدروكسي ليزين وبالتالي يمثل تعاقب الببتيدات الثلاثية المتعددة للكولاجين بالشكل $(Gly\text{-}X\text{-}Y)_{333}$ لأنه يتألف من 333 ثلاثية أي يتألف من 1000 حمض أميني.

يتم اصطناع الكولاجين وفق الآلية العامة للاصطناع البروتيني، لكن الطور الأخير معقد بشكل خاص يتم الاصطناع وفق المراحل التالية:

- ✓ اصطناع مولد الكولاجين Preprocollagene: هو سلسلة بولي ببتيد مجردة من الهيدروكسي برولين و الهيدروكسي ليزين والسكر و أكثر طولا من سلسلة الكولاجين.
- ✓ شطر الببتيد الإشعاري
- ✓ اضافة زمرة الهيدروكسيل على هذا البروتين في القسم الحاوي على جزيئات البرولين و الليزين و بوجود إنزيم مناسب ( lysylhydroxylase أو prolylhydroxylase) الذي يتفعل بوجود فيتامين س Ascorbate و إن هذه التفاعلات تتطلب ايضا ايونات الحديد و ألفا- كيتو غلوتارات و وجود أوكسجين جزيئي. وبنقص الأوكسجين أو فيتامين س يؤدي إلى توقف عمل الأنزيم مما يؤدي إلى ضعف في بنية ألياف الكولاجين و أحد النتائج المرضية لهذا النقص هو مرض الاسقربوط ((Scurry )) وغالبا يظهر عند المرضى الذي ليهم نقص فيتامين س كدمات و رضات على أطرافهم بسبب تكسر الشعيرات الدموية.

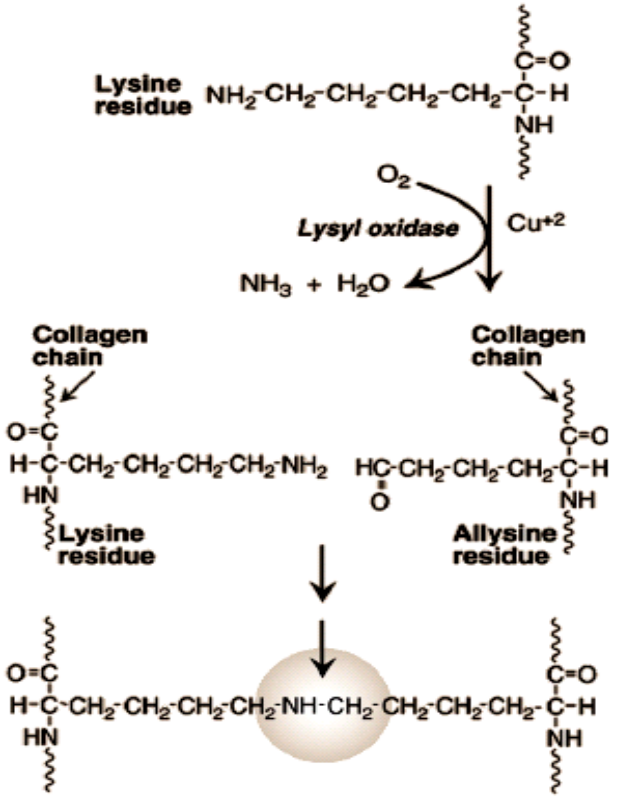



- ✓ تنظيم بعض الجزيئات كالسكر و الغلوتاميك مع جزيئات الهيدروكسي ليزين يتم هذا في جهاز غولجي
- ✓ تشكيل بنية هليكس الثلاثية و إفراز بواسطة جهاز غولجي مولد الكولاجين
- ✓ قطع النهايات في السلاسل بواسطة إنزيم خاص يدعى أمينو بروتياز حيث يتم حذف 200 حمض أميني من الطرف N التي تحوي ببتيد المعلم ( المؤشر) و بواسطة إنزيم كربوكسي بروتياز 300 حمض أميني من الطرف C و نحصل أخيراً على الكولاجين
- ✓ تتشكل الألياف بتشارك جزيئات الكولاجين حيث تشكل الجسور المشتركة بين السلاسل و الجزيئات المجاورة




مراحل اصطناع الكولاجين

- ✓ تشكل الروابط العرضانية: إن بعض أنماط الكولاجين لا تشكل أليافاً ذات شرائط عرضانية في النسج و لكن كما ذكرنا أن بعض الأنماط تشكل ألياف الكولاجين عن طريق تشكل الروابط العرضانيه المسؤولة عن تثبيت الألياف حيث ترتبط سلاسل الكولاجين بروابط تكافؤية بين الحموض الأمينية المجاورة في الفراغ.من بين هذه الروابط المعروفة جيداً تلك المتشكلة من جزيئتين من الليزين. حيث في البداية يتشكل زمرة الألدهيدية على السلسلة الجانبية لليزين بدلا من أمينية و ذلك بواسطة إنزيم Lysyl oxidase و بوجود أيونات النحاس و الأوكسجين الجزيئي ثم التفاعل الزمرة ألدهيدية و الزمرة أمينية في السلسلة الجانبية لليزين في السلسلة الكولاجين الثانية و بعد عدد من تفاعلات تتشكل الرابطة بين السلسلتين، لم يتم ذكرها الآن- تتشكل الرابطة التكافؤية HN-CH




**أمراض الكولاجين:**

أي خلل يحدث في إحدى خطوات تصنيع ألياف الكولاجين الذي يمكن أن يكون ناتج عن أمراض وراثية. يؤدي إلى عدم تكوين ألياف كولاجينية مناسبة كما في حالتين المرضيتين التاليتين:

١ -متلازمة Ehlers-Danlos-Syndrome((EDS)):

وهي عبارة عن اضطراب و خلل في الأنسجة الرابطة و التي تنتج عن خطأ وراثي أثناء خطوات تصنيع جزيئات الألياف الكولاجينية. ويمكن أن يكون سبب ال EDS هو نقص في إنزيمات مراحل تشكيل

الكولاجين مثال: Lysylhydroxylase deficiency أو Collagenpeptidase deficiency أو طفرات في تسلسل الحموض الأمينية لأنواع كولاجين I, III, V . الكولاجين من النوع III يؤدي الخلل إلى تكسر الشعيرات الدموية وخروج الدم خارج الأوعية وتحت الجلد.

و قد لوحظ عند مرضى ال EDS وجود خلل في ألياف الكولاجين نوع I وهذا يؤدي إلى تمدد واضح في الجلد و ارتخاء في المفاصل الشكل

٢ -تكون العظم الناقص: ويعرف هذا المرض بضعف ببنية العظام نتيجة خطأ وراثي بحيث تتميز بسهولة انحنائها و كسرها و المظهر الشائع للمرض هو دوران وغلتواء العمود الفقري و ظهور حدب الظهر و هو على نوعين:

- Typ I (OI) وهو يعرف ببطء تكون العظم الناقص حيث يظهر هذا المرض في فترات الرضاعة المبكرة الشكل ( 5 )
- Typ II (OI) وهو أكثر ألم و يمكن أن تكون الوفاة في الرحم أو خلال الشهر الأول من الولادة نتيجة وجود قصور في النسيج الرئوي أو في تكوين الرئة.