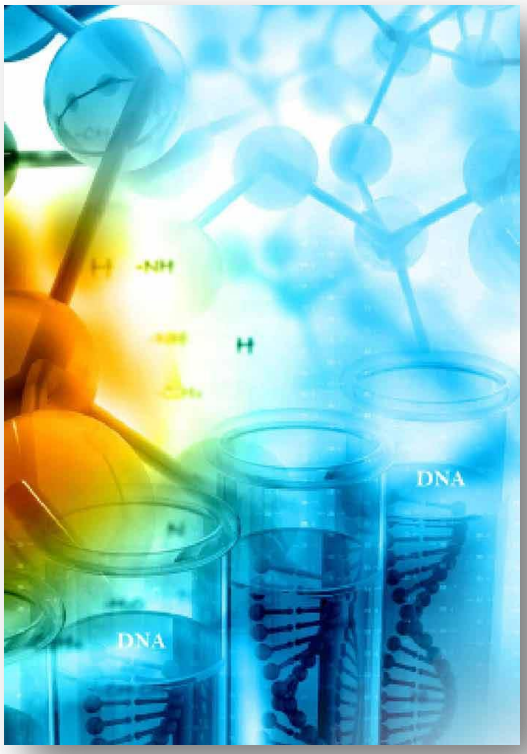
جامعة حماه – كلية الصيدلة

السنة الثانية

الفصل الثاني



الكيمياء الحيوية (1)

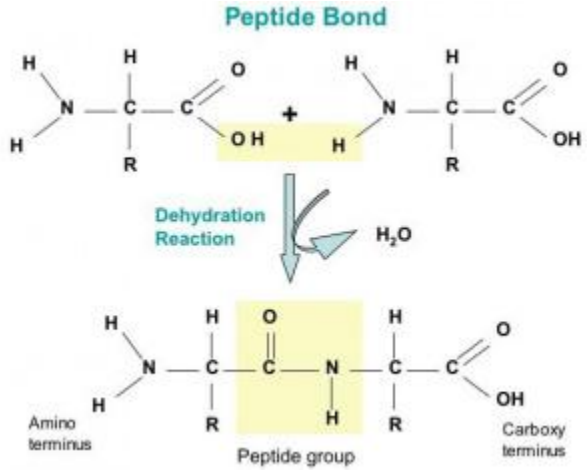
BIOCHEMISTRY (1)

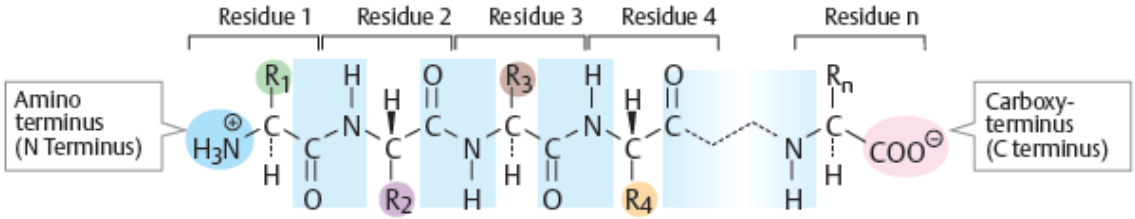
المحاضرة الثانية

د. أسامة مخزوم

الببتيدات

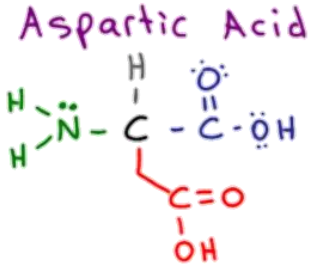
- تتصل الأحماض الأمينية مع بعضها بروابط ببتيدية.
- نجد في الشكل أنه تفاعل بلمهة ← أي تتشكل رابطة ببتيدية (أميدية) عن طريق تفاعل بلمهة وهو بنزع جزيئة ماء ناتجة عن هدروكسيل الحمض الأميني الثاني وهدروجين الحمض الأميني الأول.
- نلاحظ في هذه الببتيدات وجود بداية أمينية حرة ونهاية كربوكسيلية حرة، وإن السلسلة الببتيدية تنمو بطريقة موجهة بحيث يكون لها دائماً بداية أمينية حرة ونهاية كربوكسيلية حرة.





إذا تكلمنا عن البروتين بدون تحديد R {السلسلة الجانبية} فهذا يعني أنه يملك شحنة إيجابية وحيدة في البداية، وشحنة سلبية وحيدة في النهاية.

مثال: إذا فرضنا أن R هي حمض الأسباراتيك، وصيغته:



وبما أنه يوجد عليه زمرة كربوكسيلة إضافية فقد أكسب السلسلة الببتيدية شحنةً سالبة إضافية.

الاستنتاج: يكتسب البروتين أو السلسة الببتيدية خواصه من الجذر R، أي لكل بروتين خواص واسم و وظيفة معينة كلها تأتي من الجذر R.

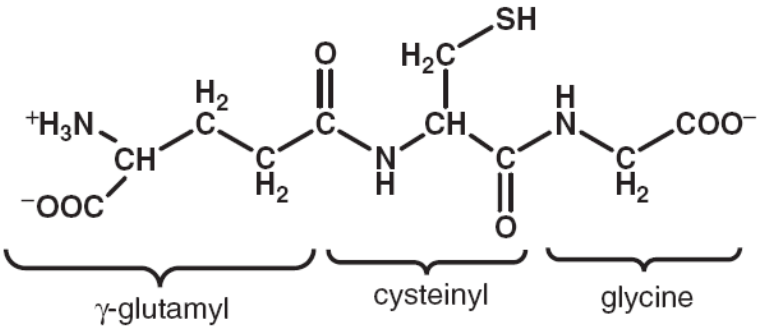
- **أنواع الببتيدات:**
  - ✓ إذا ارتبط حمضان أمينيان معاً تشكل ثنائي ببتيد **Dipeptide**.
  - ✓ إذا ارتبطت ثلاثة أحماض أمينية تشكل ثلاثي الببتيد **Tripeptide**.
  - ✓ ثم لدينا قليل الببتيد **Oligopeptide** وهو مصطلح يطلق على الببتيدات القليلة المتكونة من أقل من عشر أحماض أمينية أي حتى تسعة أحماض.
  - ✓ ثم لدينا عديد الببتيد **Polypeptide** الذي يتشكل من عشرات الأحماض الأمينية.

أمثلة عن ببتيدات مهمة في الجسم

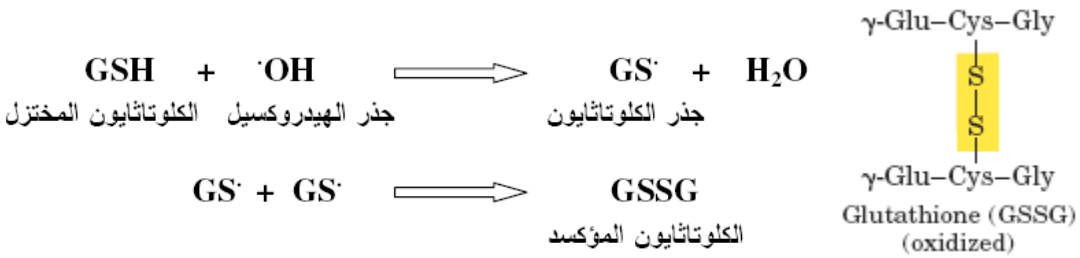
هي عبارة عن ببتيدات غير بروتينية منخفضة الوزن الجزيئي.

1- **الغلوتاتيون Glutathion**:

يتألف من 3 حموض أمينة :بيتاغلوتاميل – سيتئين – غليسين ويرمز له **GSH**، وتعد زمرة الكبريت هي الزمرة الفعالة فيه التي تجعله من العوامل المرجعة.



يلعب **GSH** دوراً كبيراً كمضاد أكسدة في حماية الخلايا من الجذور الحرة التأكسدية، وعندما يتأكسد يتحول إلى الغلوتاتيون المؤكسد **GSSG**.

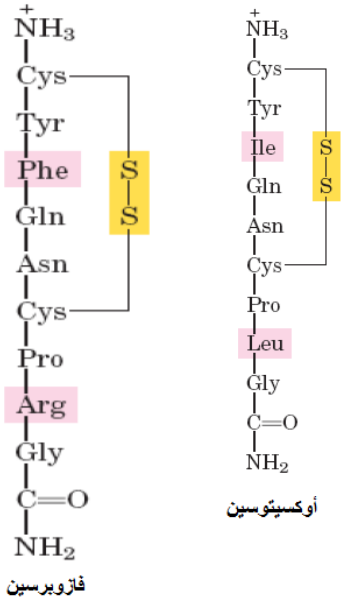


2- الأوكسيتوسين Oxytocin

الأوكسيتوسين هورمون حلقي يتكون من تسعة أحماض أمينية (**الشكل**) يفرز من الفص الخلفي للغدة النخامية، ويكثر إفرازه أثناء العمل اذ يعمل على تقلص الرحم أثناء الولادة كما يقوم بوظيفة تقلص العضلات الملساء في الغدة اللبنية مؤدياً الى إفراز الحليب.

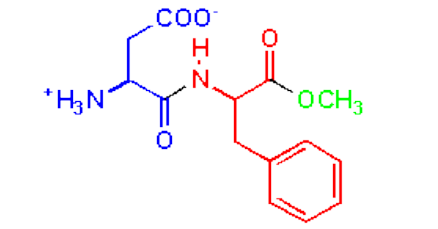
3- الفاسوبرسين Vasopressin

الفاسوبرسين هورمون حلقي يتكون من تسعة أحماض أمينية (**الشكل**). ويفرز أيضاً من الفص الخلفي للغدة النخامية. ويعمل على ارتفاع ضغط الدم عند زيادة تركيزه.



4- الأسبارتام Aspartame:

ثنائي ببتيد ومحلي صناعي أكثر حلاوة من سكر المائدة بـ 200 مرة، يستخدم لدى مرضى السكري وفي التنحيف، يتألف من ارتباط حمضين أمينيين، الأسبارتيك مع فينيل ألانين مع إستر الميتيل.



Aspartyl-phenylalanine methyl ester

البروتينات

البروتينات مواد عضوية نتروجينية معقدة التركيب، تتألف من تسلسل وحدات من الحموض الأمينية لتشكل سلسلة ببتيدية أو عدة سلاسل تشكل بنية فراغية عبر عدة مستويات.

يكون البروتين المكون الأساسي في الجسم حيث يشكل 20% من وزن الجسم، والعضلات وحدها تحوي 50% من كتلة بروتين الجسم.

نجد البروتينات في كل مكان، في العضلات والجلد والأظافر والأنسجة الرابطة ومكونات الدم والأضداد، ولا ننسى أن الإنزيمات أيضاً هي عبارة عن بروتينات.

من بعض وظائف البروتينات :

- البروتينات مادة بناء أساسية لمختلف أجزاء وأنسجة الجسم مثل الكولاجين والإلاستين والكيراتين.
- تشارك في عمليات الإصلاح والترميم وإعادة البناء، بعد الحروق مثلا.
- مصدر للطاقة احتياطي، وذلك بعد حرق السكريات والدهون.
- الحفاظ على التوازن المائي في الجسم:

إن وجود البروتينات خاصة الألبومين بالدم ينظم حركة الماء بين الخلايا والدم، حيث يسحب الماء الناتج عن عمليات الاستقلاب إلى خارج الخلايا للمحافظة على الضغط الحلولي، وإن نقص كمية الألبومين في الدم يؤدي إلى حدوث وذمات خاصة في البطن والأرجل (تجمع الماء داخل الخلايا).

- الحفاظ على التوازن الحمضي القلوي:
محاليل البروتين تعد مقاومة لتغير الـ **PH** أي تلعب دور دارئة، لأنها تسلك سلوك حمض أو أساس بفضل مجموعتيه الأمينية والكربوكسيلية.
- تدخل في تركيب الكروموزومات عبر بروتينات الهستونات.
- دور كبير في الاستقلاب التي تقوم به الإنزيمات والتي هي بروتينات.
- يدخل البروتين بتركيب هرمونات مثل هرمون الأنسولين.
- وظيفة مناعية عبر الأضداد المناعية والتي هي عبارة عن بروتين.
- وظيفة ناقلة مثل بروتينات الألبومين والبروتينات الشحمية والترانسفرين.
- وظيفة تقلصية استرخائية للعضلات يقوم بها الاكتين والميوزين.

تصنيف البروتينات

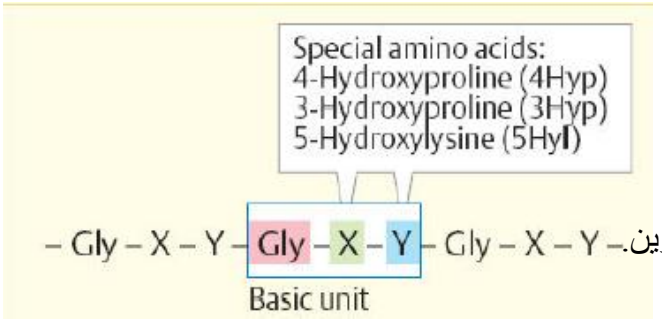
تصنف البروتينات بناء على شكلها إلى بروتينات ليفية وبروتينات كروية.

البروتينات الليفية

تشمل البروتينات غير الذوابة وتكون غنية بالأحماض الأمينية الكارهة للماء، وهي ذات وظيفة بنائية تكون الأجزاء الداعمة في الجسم، ومنها الكولاجين، الإلاستين، الكيراتين والفبرين.

الكولاجين COLLAGEN:

- يعتبر أساس تركيب النسج الرابطة والجلد والغضاريف والعظام والأسنان، وهو عدة أنواع وبالتالي عدة خصائص حسب النسيج.
مثلا على شكل هلام في المطرس خارج الخلوي "الوسط بين الخلايا" والخلط الزجاجي للعين، في حين يكون مرصوص بشدة كما في الأوتار، اما في العظام فيتجمع بوضعيات معينة لتقاوم الضغط الميكانيكي.



- تنتج طلائعه من خلايا الأورمات الليفية Fibroblast.
- عادة يكون مقاوم بالهضم بإنزيمات الجهاز الهضمي مثل الببسين والتربسين.
- يتكون بشكل أساسي من الغليسين (يعاد كل 3 حمض أميني) والبرولين وهيدروكسي برولين وهيدروكسي ليزين.
- يتحول إلى الجيلاتين بغليه مع الماء.

الإلاستين ELASTIN:

بخلاف الكولاجين الذي يعطي صفة القوة المقاومة للشد بالغالب، فإن الإلاستين يتمتع بخواص تشبه المطاط، وهو من مكونات النسيج الضام يتواجد ضمن الرئتين، جدر الشرايين والأربطة، ويمكنه أن يتمطط لعدة أضعاف طوله ثم يعود لحالته الأساسية بعد زوال المسبب.

يثبط إنزيم ألفا أنتي تربسين من تدرك الإلاستين، وعوز هذا الإنزيم يؤدي لنفاخ رئوي.

(الكولاجين قوة، الإلاستين مرونة وقابلية شد ومط، وكثيرا ما يترافقان سويا).

الكيراتين KERATIN:

يكون الأنسجة الواقية في الجلد والاظافر والشعر والقرون، وهو مقاوم للهضم بإنزيمات الجهاز الهضمي، ويعود سبب قوته لاحتوائه على السيستئين بكثرة الذي يرتبط مع بعضه بروابط كبريتية (أقوى روابط تثبت البروتين) لكن تختلف نسبة السيستئين حيث فتكون أعلى في القرون والأظافر في حين تكون أقل في الشعر والجلد.

الليفين أو الفبرين FIBRIN:

بروتين تخثر الدم، ويتكون من مولد الليفين FIBRINOGEN.

البروتينات الكروية

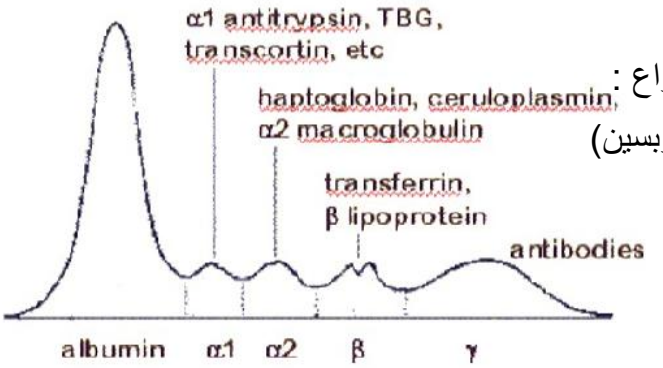
لها شكل مكور تتجه فيه المجموعات الكارهة للماء نحو الداخل وأغلبها منحل بالماء، ومنها:

الألبومين ALBUMIN:

بروتينات ذوابة تتخثر بالحرارة ومنها زلال البيض Ovalbumin وألبومين الحليب وألبومين المصل Serum albumin.
يلعب الألبومين بالمصل دوراً هاما في توازن السوائل بين الخلايا والدم، بالإضافة إلى أنه ناقل للكثير من المواد في الدم.

الغلوبولين GLOBULIN:

بروتينات قليلة الذوبان بالماء.



عند إجراء الرحلان الكهربائي ينقسم الغلوبولين في الدم إلى 4 أنواع :

- ألفا1 (مثل بروتين الدرق Thyroglobulin وألفا 1 أنتي تربسين)
- ألفا2 (مثل السيرولوبلازمين ناقل النحاس)
- بيتا (مثل الترانسفرين ناقل الحديد والبروتينات الشحمية)
- غاما (أضداد مناعية IgG, IgM, IgD, IgA, IgE).

الغلوتيلينات GLUTELINS:

بروتينات نباتية غنية بالغلوتاميك والارجينين والبرولين، ومنها غلوتين القمح، وإن مرض الداء الزلاقي يكون نتيجة عدم تحمل الغلوتين لذلك ينبغي تجنب هذا البروتين في الأكل واتباع حمية غذائية خالية منه (خالية من القمح).

الهستونات HISTONES:

ذوابة ومشحونة، يغلب على تركيبها الحموض الأمينية القاعدية مثل اللايزين والأرجينين، وتتحد بسهولة مع المجموعات السلبية للحموض النووية وبذلك تسهل من التفاف الـ **DNA**، وتتواجد ضمن النواة.

البروتامينات PROTAMINES:

ذات وزن جزيئي منخفض أقل من 5000 دالتون، وبالتالي يمكن اعتبارها ببتيدات وليس بروتينات، تتمتع بخواص قلوية لاحتوائها على الأرجينين بنسبة كبيرة.

كما تصنف البروتينات إلى بروتينات بسيطة (لا تحوي إلا مكون بروتيني)، وبروتينات مقترنة تحوي مكونات أخرى.

البروتينات المقترنة

البروتينات الملونة CHROMOPROTEINS :

بروتين + مجموعة صبغية مثل بروتينات الهيموغلوبين والميوغلوبين والسيتوكروم، حيث أن الهيموغلوبين عبارة عن ارتباط بروتين الغلوبين مع الهيم الذي يحوي الحديد، كما أن إنزيمات السيتوكروم تحوي مجموعة الهيم.
تلعب هذه البروتينات دوراً كبيراً في نقل الأكسجين وفي تفاعلات الأكسدة والإرجاع.

البروتينات المعدنية METALLOPROTEINS:

بروتينات معقدة تحتوي على المعادن التي ترتبط مباشرة مع السلسلة الببتيدية، مثل الفيريتين الذي يدخل في تركيبه 20% حديد.

البروتينات النووية NUCLIOPROTEINS:

ترتبط مع DNA ضمن النواة برباط شاردي.

البروتينات الفوسفورية PHOSPHOPROTEINS:

يدخل في تركيبها حمض الفوسفور حيث يرتبط بروابط إسترية مع مجموعات OH للسيرين غالبا، كما في كازئين الحليب وهو غير منحل بالماء.

البروتينات السكرية GLYCOPROTEIN والبروتينات المخاطية MUCOPROTEIN :

في البروتينات السكرية تكون نسبة السكريات 4% تقريباً، أما في البروتينات المخاطية فقد تصل نسبتها لـ 60%.
مثال على البروتينات السكرية جزيئات MHC على سطح الخلايا والتي تساعد على تمييز الذات.
مثال على البروتينات المخاطية بروتين الموسين mucins (الغني بالسيستئين) في جدار المعدة والذي يحميها من الإفرازات الحامضية وفي القصبات والقشع وغيرها من الأماكن.

تعمل الأدوية الحالة للمخاط مثل كاربوسيتئين على تكسير الروابط الكبريتية ضمن جزيئات القشع وبالتالي تسهيل طرده

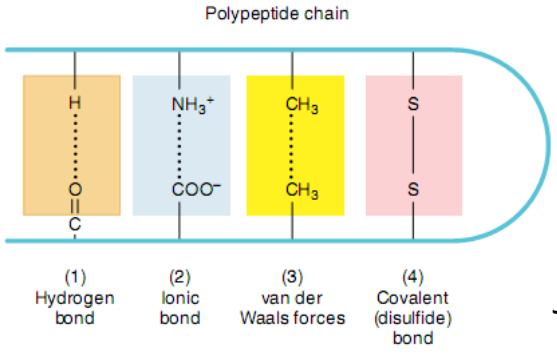
البروتينات الدهنية LIPOPROTEIN:

عبارة عن عربات نقل للدهون غير المنحلة في الماء ضمن الدم، سنتكلم عنها لاحقاً.

بنية البروتين

إن العمود الفقري للسلسلة الببتيدية تتضمن **الروابط الببتيدية**، وإن ثبات هذه الرابطة وقوتها تعطي ثباتا واستقرار للوحدات البنائية للبروتين وهي البنية الأولية له.

تشكل بعدها هذه الوحدات البنائية تركيب ثانوي وثالثي بفضل روابط أخرى محدثة تعمل على المحافظة على شكل البروتين المحدث بهذه البنى وتشمل هذه الروابط :



- **روابط ثنائية الكبريت:** تعد أقوى هذه الروابط ولا تتحطم بسهولة.
- **الروابط الهدروجينية:** التي تتشكل بين الهيدروجين المرتبط بـ (O أو N أو S) مع أكسجين آخر، وإن هذه الروابط تكون مسؤولة عن البنية الثانوية، وعلى الرغم من ضعفها لكن عددها الكبير يؤمن الثبات للبنية.
- **تداخلات كارهة للماء:** تحدث بين السلاسل الجانبية غير القطبية عند وضعها بوسط مائي، هي عبارة عن تداخل أو انجذاب أكثر منها روابط حقيقية.
- **قوى فاندرفالس:** قوى تجاذب تنتج بين المجموعات الهيدروكربونية غير القطبية للسلاسل الجانبية.
- **روابط أيونية كهربائية:** تتكون بين الأحماض الأمينية الحمضية مع الأحماض الأمينية القلوية.

سندرس بنية البروتين في أربع مستويات:

- مستوى البنية الأولية، ثم مستوى البنية الثانوية، ثم مستوى البنية الثالثية، و أخيراً البنية الرابعية.

أولاً: البنية الأولية

ماهي البنية الأولية؟

تهتم بأنواع الحموض الأمينية الداخلة في هذه السلسلة وَ مواقعها (ترتيبها) و لكل سلسلة ببتيدية بنية أولية خاصة بها.

- يتم تحديد كل حمض في موقعه اعتمادا على الرسالة القادمة من الجين المشفر له.
- إنّ تسلسل الحموض الأمينية في السلسلة الببتيدية هو مفتاح الأهمية أي موضِع كل حمض في السلسلة.

مثال توضيحي: إذا كان لدينا عديد الببتيد التالي: آلانين – غليسين - تربتوفان نجد أن البداية الأمينية هي الآلانين، والنهاية الكربوكسيلية هي تربتوفان، لكن إذا قمنا بتغيير مواضع الأحماض الأمينية كما يلي: تربتوفان – غليسين - آلانين نجد أن التركيب الإجمالي صحيح وهو نفس الأول، ونفس الحموض الأمينية، ونفس الوزن، ونفس الخواص، لكن عديد الببتيد الثاني مختلف تماماً عن عديد الببتيد الأول وهذا بسبب اختلاف الترتيب الفراغي للحموض الأمينية.

إذن ترتيب الأحماض يحدد مستوى البنية الأولية.

مثال: إذا كان لدينا سلسلة ببتيدية تحوي 100 حمض أميني، إذاً فهي تحوي R100 ، لكن لكل R صفاته الخاصة، منها ما هو محب للماء، وكاره للماء، ومستقطب، وحامضي، وقاعدي، وكبريتي.
وبالتالي سيكون لها محصلة تأثير على كامل السلسة وهذه المحصلة ستكون عبارة عن بنية البروتين المعقدة.

صفات البنية الأولية

ثابتة جداً؛ لأنها تتشكل من الرابطة الببتيدية الأميدية التي تمنح البنية الأولية هذا الثبات المطلق.

لذا: إذا أردنا تحليل البروتين (أي تكسير الروابط الببتيدية من أجل معرفة أنواع الأحماض الأمينية) نحتاج إلى تركيز حمضي مقداره 12 مول «مركّز جداً» وحرارة مقدارها 121 درجة مئوية وضغط جوي 15 ضغط جوي «باسكال».

وهذا كلّه لأمانة البروتين، لكي يكون قادر على الحفاظ على نفسه بكافة الظروف وهذا بفضل الرابطة الببتيدية الثابتة جداً.

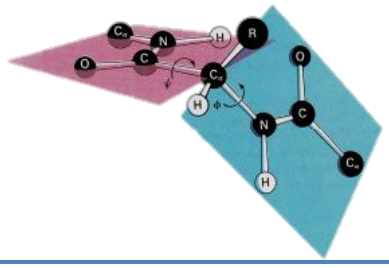
خواص الرابطة الببتيدية

تملك الرابطة الببتيدية بعضاً من صفات الرابطة الثنائية (بالرغم من أنها أحادية) في أنها:

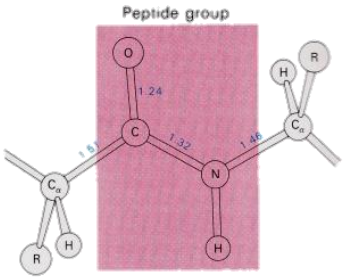
مقيّدة الدوران، وتشكل مستوي.

- ✓ مقيدة الدوران، أي لا تدور إلا بأوضاع محسوبة مسبقاً، ولا تدور بحرية.
- ✓ تشكّل مستوي، أي كل رابطة ببتيدية في مستوٍ محدد على شكل مستويات أي ليس خط مستقيم بل خط مكسّر يشبه درج البناية.

في الرابطة الببتيدية نجد أن الأوكسجين والهيدروجين دائماً بوضع (مفروق trans) وهذا يجنبها التداخل الفراغي مع الجذور R.



الدوران مقيد



نلاحظ الصفة المستوية في الرابطة الببتيدية

ملاحظة:

إن صفة الدوران المقيد لهذه الرابطة الببتيدية ووجودها ضمن مستوي هي من ستشكل لنا البنية الثانوية.

إذن: البنية الثانوية تنتج من خواص الرابطة الببتيدية.

ثانياً: البنية الثانوية

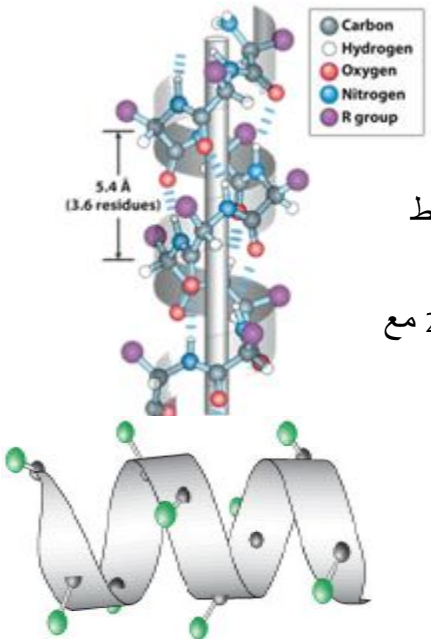
البنية الثانوية توضح كيفية التواء السلسلة متعددة الببتيد لتعطي أشكالا ثابتة معينة عن طريق الروابط الهدروجينية.

لنتحدث بالبداية عن تجربة (لينوص بولينغ) و (روبرت كوري) عام1951

صنع هذان العالمان سلسلة ببتيدية مكونة من 40 حمض أميني وهذا الحمض هو فقط ألانين، وقاموا بجعلها على شكل بلورات. قاموا بضغط هذه البلورات فتشكلت لويحة (صفيحة) شفافة جداً.

أخذوا اللويحة و وضعوها في مسار الأشعة السينية، ثم قاموا باستقبال الأشعة المنعرجة على فلم حساس، وقاموا بتحميضه، فوجدوا وجود بنية حلزون في البنية.

الاستنتاج الأول:	تتبنّى السلسلة الببتيدية دوراناً محدوداً ينتج عنه بنية حلزونية الشكل هي حلزون ألفا Alpha Helix (ألفا: أي أول بنية دورية تم اكتشافها)



بعدها قاموا بقياس الارتفاع بين كل حمض أميني، وجدوا أن كل حمض أميني ارتفاعه عن الذي سبقه 1,5 أنغستروم، وكل حمض أميني سيدور بمقدار 100 درجة وذلك بالنسبة للحمض الاميني الذي سبقه. وبما أن ان الدورة الكاملة 360 درجة هذا يؤدي أنه تستوعب الدورة الكاملة من الحلزون 3,6 حمض اميني.

يتثبت الحلزون ألفا بالروابط الهدروجينية المتشكلة بين مجموعات CO و NH بحيث يرتبط أكسجين زمرة الكربونيل CO لأول حمض أميني مع هدروجين زمرة NH لرابع حمض أميني في الحلزون بسبب أنه يصبح مقابله تماماً بسبب الالتفاف، والحمض الأميني رقم 2 مع الحمض الأميني رقم 5، ورقم 3 مع 6، وهكذا.

أما الجذور R فإنها تتجه لخارج الحلزون لتجنب الإعاقة الفراغية نتيجة الازدحام داخله.

قاموا باختبار سلسلة ببتيدية تحوي فقط اللايزين فوضعوه في pH=7 وقاموا بتنفيذ تجربة الاشعة السينية لكنهم تفاجؤوا بعدم ظهور الحلزون ألفا، بل ظهرت انعراجات عشوائية،

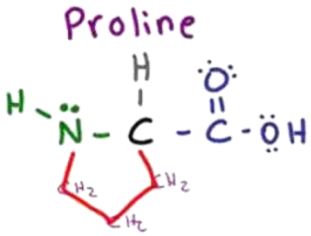
اذن: ما سبب عدم تشكل الحلزون الفا؟!

اللايزين قاعدي عليه شحنة موجبة سيحصل تنافر بين جزيئاته ولن يشكل الحلزون، يحتاج الى pH اكبر من 7 حتى يظهر الحلزون من أجل أن تختفي الشحنة وقد ظهر من العالمَين انه عندما pH=12 يتشكل الحلزون ألفا، وكذلك مع حمض الغلوتاميك أو الاسبارتيك عند pH=7 لن يتشكل الحلزون ألفا لأن هذا الحمض عليه شحنة سالبة أي يجب أن يكون pH أصغر من سبعة أي حوالي pH =2 عندها يتشكل الحلزون ألفا.

الاستنتاج الثاني:	ليست كل السلسلة البروتينية (التي تحوي 1000حمض اميني مثلاً) تشكل حلزون ألفا حيث هناك مناطق لا تحوي هذا الحلزون لعدم قدرة بعض الأحماض الأمينية من تشكيلها والاندماج مع بعضها ضمن الحلزون.

وذلك بسبب:

1. إما لوجود شحن متماثلة مثلاً: منطقة كلها موجبة أو سالبة (ستتنافر في ما بينها وتتعذر عن تشكيل الحلزون الفا).
2. وأيضاً اذا جاءت مناطق تحوي جذور R كبيرة مثلاً: تربتوفان هذا يؤدي إلى صعوبة قبولها فراغيا ضمن الحلزون الفا.
3. وأيضاً من شروط تشكل الحلزون ألفا الحمض الاميني رقم 1 (R1) يشكل رابطة هدروجينية مع الحمض الأميني رقم 4 (R4)، والحمض الأميني رقم 2 (R2)مع الحمض الأميني رقم 5 (R5)، ورقم3 (R3) مع 6(R6) وهكذا.



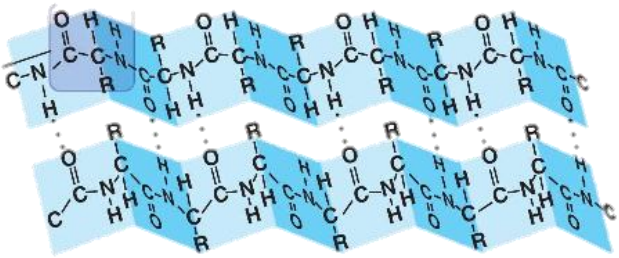
هناك حمض أميني لا يمكنه تشكيل رابطة هدروجينية وهو البرولين (منقوص ذرة هدروجين على N) حيث يمكن أن نراه في بداية الحلزون او في نهاية الحلزون ولا يمكن رؤيته في وسط الحلزون.

إذا لم تستطع السلسلة الببتيدية إن تدور و تشكّل الحلزون ألفا ماذا تفعل؟

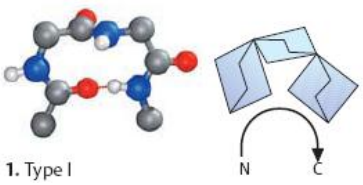
تمتد السلسلة ولا تلتلف على شكل صفائح زكزاك لتشكل صفائح بيتا **Beta Sheets**، ثم تغير اتجاهها حيث تتفاعل الأحماض الأمينية المتقابلة مع بعضها وتتشكل روابط هيدروجينية (بين أكسجين زمرة الكربونيل CO مع هدروجين زمرة NH).

إذن هي لا تدور بل تنطوي وتشكّل صفائح بيتا المنطوية، وتكون المجموعات R أعلى أو أسفل الصفيحة بالتناوب لتجنب الزحام.

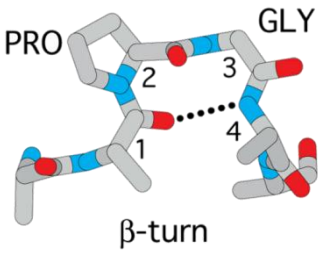
ذلك يتم بين ثمالات الحموض الأمينية المنتمية إلى سلاسل ببتيدية مختلفة متجاورة، أو إلى أقسام مختلفة من السلسلة الببتدية الملتفة على بعضها ذاتها.


β pleated sheet

- نجد أن هذه الروابط الهيدروجينية تكون **عمودية على محور الصفيحة** أما في الحلزون ألفا تكون الرابطة الهيدروجينية موازية لمحور الحلزون.



- يمكن للسلسلة الببتيدية أن تعكس اتجاهها بواسطة بنية تسمى **دورة بيتا Beta turn**، وهي 4 ثمالات من الأحماض الأمينية (Ala-Gly-Asp-Ser) تتشكل رابطة هدروجينية بين الثمالة رقم 1 "ألانين" والثمالة رقم 4 "سيرين" وتؤمن التفاف صفيحة بيتا وعكس اتجاهها.



- من وظائف دورة بيتا أيضاً ربط الصفيحة المطوية بالحلزون ألفا.

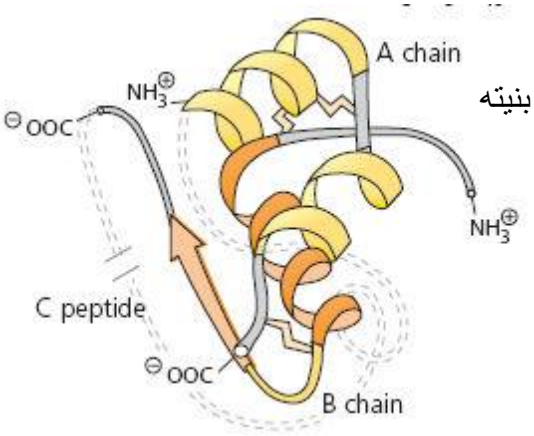
- **لماذا صفائح بيتا المنطوية أثبت بكثير من الحلزون ألفا؟**

✓ لأن الأسباب التي دعت إلى عدم تشكل الحلزون ألفا ليس لها قيمة في صفائح بيتا.

✓ صفائح بيتا المنطوية هي أثبت بروتينات موجودة، فالحرير الطبيعي غالٍ لأنه منسوج بطريقة صفائح بيتا المنطوية (الثبات يعني النَفيس وبروتين الحرير هو نموذج بنية الصفيحة المطوية).

✓ نقطة هامة 1:	إن صفائح بيتا المنطوية ليس شرطاً أن تكون في سلسلة واحدة، فمثلاً إذا كان البروتين مؤلف من سلسلتين فيمكن أن تصبح الصفائح بين تلك السلسلتين.
✓ نقطة هامة 2:	بيتا لا يعني شيء، فقط هو رقم (2) أي تمَّ اكتشافها بعد الحلزون ألفا وبنفس الوقت أكتُشفِت دورة بيتا.

نستنتج:	البنية الثانوية للبروتين تتألف من 3عناصر : الحلزون ألفا، صفائح بيتا المنطوية، دورة بيتا. وهذه البنى موجودة في كافة البروتينات.



مثال **بروتين الأنسولين** يتألف من سلسلتين A و B بالإضافة للبتيد C تكون بنيته الثانوية مؤلفة من 57% حلزون ألفا، 6% صفائح بيتا، 10% دورة بيتا، و 27% بنى غير مميزة.

البنية الثالثية

➢ عندما يصنع البروتين ويخرج إلى الوسط الخلوي تتشكل البنية الثالثية الخاصة به.

✓ الوسط الخلوي مائي والماء جزيء قطبي فعندما يلقى فيه جزيء كبير كالبروتين الذي يحوي أقسام تستطيع المعاملة مع الماء (محبة للماء)، وأقسام لا تستطيع التعامل مع الماء (كارهة للماء).

✓ السؤال هنا: ماذا سيتصرف البروتين بالنسبة لأقسامه الكارهة للماء؟!

يقوم بتقليل نقاط التماس ما بين السلسلة الببتيدية الكارهة للماء مع الماء، لذا يلتف البروتين على نفسه داخل الماء بما يحويه من بنىً ثانوية وهكذا معظم الأحماض الأمينية الكارهة للماء ستكون ضمن البروتين بعيدة عن الماء (مثل الفالين واللوسين والإيزولوسين والتربتوفان) أما الأحماض الأمينية المحبة للماء (مثل الأرجينين والهستدين واللايزين والأسبارتيك والغلوتاميك والسيرين والتريونين) ستتوجه نحو الخارج، مما يعطيه بنية

ثلاثية الأبعاد تثبتها العلاقات الجديدة التي تنشأ بين الأحماض الأمينية تسمى بالبنية الثالثية وهي تعطيه وظيفته المميزة.

✓ السؤال الذي يطرح نفسه: ما هي العلاقات الجديدة؟!

عندما التفت السلسلة على بعضها تقاربت الأحماض الأمينية من بعضها (الأحماض البعيدة أصبحت قريبة)

سنرى في المثال التالي ماذا ينتج عن هذا القرب:

مثال 1 : ليكن لدينا اللايزين قي سلسلة ببتيدية رقمه 10 وفيها حمض الأسبارتيك رقمه 90 ، في السلسلة المنشورة يكون اللايزين بعيد عن حمض الأسبارتيك، لذا عند التفاف السلسلة على بعضها من الممكن أن يكون رقم 10 مقابل رقم 90 ، وبالتالي ستنشأ بين الحمضين علاقة جذب كهربائي ساكن بين الشحنة الموجبة للايزين والشحنة السالبة لحمض الأسبارتيك.

مثال 2: ليكن لدينا الفينيل آلانين وهو كاره للماء كما نعلم ، إذا أصبح بجوار فينيل آلانين آخر ما الذي يحدث؟ يتجاذبان لاتفاقهما في كره الماء ← قوى كارهة للماء Hydrophobic Forces.

العلاقات الجديدة هي كمحصلة ← تثبت البنية الثالثية للبروتين، والبروتين يأخذ وظيفته من هذه الهيئة الفراغية لذا نسميها وظيفية.

ما الذي يثبت البنية الثالثية؟!

✓ تتثبت بقوى غير تكافئية (القوى الغير تكافئية ضعيفة، لكنها عندما تجتمع مع بعضها البعض تعطينا قوى كافية للتثبيت) وهي الروابط الكارهة للماء، وروابط فاندرفالس وقوى التجاذب الكهربائي الساكن.

✓ رابطة تكافئية وهي الروابط الكبريتية (ثمالتي سيستئين بجوار بعضهما).

إذن الجسر الكبريتي هو الرابطة التكافئية الوحيدة التي توجد بين الروابط المثبتة للبنية الثالثية، ولشدة قوة هذا الجسر تم تسميته القفل (فهو لا يسمح للبنية بأن تتفكك وأن تزول).

✓ من خواص البنية الثالثية أنها حساسة تماماً للوسط ، لذا كي تستمر في عملها ووظيفتها وسلامتها يجب أن تكون في وسط حي، والوسط الحي هو سوائل الجسم التي فيها تراكيز ملحية مناسبة وفي حرارة 37 فهذه الظروف هي التي تسمح للسلسلة الببتيدية أن تأخذ بنيتها الثالثية وأن يصبح البروتين حي يقوم بوظيفته، فلو تغير أي شرط من هذه الشروط ستختل البنية الثالثية ويفقد البروتين وظيفته.

✓ **كيف تختل الشروط؟**

- ارتفاع درجة الحرارة← سيتغلب على القوى المثبتة وتتخرب البنية الثالثية.

- تغير الـ PH← سيتغلب على القوى المثبتة وتتخرب البنية الثالثية.

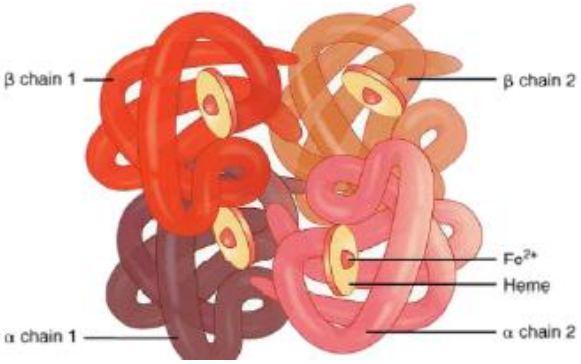
- تراكيز ملحية عالية← ترسب البروتين (أي تزاحمه على الماء)← تتخرب بنيته الثالثية.

البنية الرابعية

متى ولماذا يأخذ البروتين بنيةً رابعية، طالما أن البنية الثالثية هي الوظيفية؟

البنية الرابعية هي من اختصاص البروتينات التي تملك اكثر من سلسلة ببتيدية واحدة.

الريبونكلياز ليس له إلا بنية ثالثية لأنه يتكون من سلسلة ببتيدية واحدة، لو كان فيه سلسلتين لأصبح لديه بنية رابعية.



البنية الرابعية هي علاقة السلاسل مع بعضها البعض.

مثال الهيموغلوبين: هذا البروتين يحوي 4سلاسل ببتيدية (2 ألفا و2 بيتا)،
لكل سلسلة من هذه السلاسل بنيتها الأولية والثانوية والثالثية،
والاجتماع مع بعضها بشكل جزيء الخضاب وبذلك تتشكل البنية الرابعية.

من الذي يثبت البينية الرابعية ؟

تجاذبات كهربائية ساكنة - روابط كارهة للماء - روابط هيدروجينة - وقد يكون هناك جسور كبريتية.

البنية الرابعية حساسة جدا للوسط ونوعية جدا كالثالثية.

وظيفة البنية الرابعية تنظيم العمل، كما سنرى بالمثال التالي:

مثال الهيموغلوبين (خضاب الدم) وهناك ايضا في الجسم الإنسان الميوغلوبين (خضاب العضلات) وهو سلسلة واحدة ووظيفته هي ربط الأوكسجين وهو مخزن احتياطي للأكسجين في العضلات.

خضاب الدم مكون من اربع سلاسل نلاحظ انه كل سلسلة بمفردها تشبه الميوغلوبين، وفي الحقيقة كل سلسلة بمفردها تقوم بربط الأوكسجين فاذا اجتمعت مع بعضها أصبحت بنية رابعية **ويصبح الهيموغلوبين ناقل للأوكسجين وليس رابط له.**

غالبا البنية الرباعية لها خصائص فيزيولوجية مختلفة عن مكوناتها من تحت الوحدات.

الميوغلوبين رابط اما الهيموغلوبين ناقل وشتان بينهما.

لوكان الهيموغلوبين رابطا للأوكسجين سيرتبط به ولن يفلته وبهذه الحالة لن تستفيد الانسجة منه شيئا لذا فهو ناقل.

اماكن وجود الأوكسجين (الرئتين) يتخذ البروتين بنية رابعية محبة للأكسجين فيربط الأكسجين به ويأخذه الى الاماكن التي يقل بها الأكسجين (الانسجة) فيتخذ بنية رابعية اخرى كارهة للأكسجين فيتخلى عنه في الانسجة ويربط مكانه H و Co2 ويعود بهما الى الرئتين ويعود لاتخاذ البنية الرابعية المحبة للأكسجين وهكذا.

تمسخ البروتين Denaturation

البروتين الطبيعي يملك بنية ثانوية وثالثية (ورابعية ان وجدت) وهو يقوم بوظيفته ضمن الشروط الفيزيولوجية .

أما البروتين غير الطبيعي فهو البروتين الذي تعرض لعوامل تزيل وتهدد بنياته عدا الأحادية.

نقصد بتمسخ البروتين فقدان وظيفته الفيزيولوجية نتيجة تخرب كلي أو جزئي في البنى الثانوية والثالثية والرابعية (إن وجدت).

كيف يتم ذلك؟

- ✓ **بشكل غير عكوس** عن طريق ظروف قاسية مثل: درجات حمضية أو قلوية مرتفعة، الحرارة، أشعة فوق بنفسجية، أمواج فوق صوتية، وكل شيء طاقيّ (أي يعطي طاقة) سيخرب البروتين، إذ تتغلب الطاقة على هذه الروابط الضعيفة المثبتة مثل الروابط الهدروجينية وغيرها وبالتالي يفقد البروتين بنيته الحساسة، كما أن إضافة أملاح المعادن الثقيلة (ترتبط مع مجموعات SH بالبروتين) سيخرب البروتين بشل غير عكوس.

- ✓ **بشكل عكوس** عبر إضافة تراكيز مرتفعة من الملح ستخرب البروتين، حيث أن جزيئات الملح ستنافس البروتين على جزيئات الماء، وإن البنية الثالثية بنيت بالأساس على علاقة البروتين بالماء حيث أن الماء تشكل طبقة او قوقعة محيطة بالبروتين، فإضافة الملح بتراكيز عالية ستأخذ كل الماء الموجود الذي يحيط بالبروتين (القوقعة) ويصبح البروتين محررا من الماء وتختل بنيته الثالثية لأنه لم يعد الماء يشارك في تثبيت هذه البينة الحساسة ولم يعد يحضنها، وبالتالي الماء لن يكون روابط مع البروتين وسيكونها مع الملح وبالتالي ستتخرب البنية الثالثية، اذا ازلنا التراكيز الملحية على يعود الماء إلى البروتين ويعود البروتين الى طبيعته أي هنا التخرب عكوس، كما أن إضافة المذيبات العضوية مثل الإيتانول سيسحب جزيئات الماء وسيرسب البروتين ويخل ببنيته الثالثية وبشكل عكوس غالبا.

في حال كان التغير عكوس، هل دائما يعود البروتين لبنيته الصحيحة ؟

قام العالم أنفنسنت بتجربة كالتالي:

اختار ملح البولة صيغتها: $NH_2-CO-NH_2$

1-أخذ بروتيناً فعّالاً نشيطا هو الريبونكلياز قام بقياس فاعليته فكانت 100% أي بروتين سليم البنية

2-أضاف إلى المصل البروتين 8 مول من البولة ثم قام بقياس فاعليته من جديد فكانت 0% أي تخربت البنية (أصبح يملك بنية أولية فقط).

3-قام بإزالة الملح وأعاد البروتين إلى الوسط الفيزيولوجي الطبيعي، قاس الفاعلية فكانت 0% أي البروتين التف بطريقة جديدة فتشكلت له بنية ثالثية جديدة وهي ليست الريبونكلياز.

لماذا لم يعيد البروتين التفافه الصحيح لتشكيل بنيته الثلاثية ؟؟

بعد ثلاث سنوات من التفكير قام بمراجعة بنية الريبونكلياز فوجد فيها جسور كبريتية وللتذكرة فإن الجسور الكبريتية هي أقفال على البنية فهذه روابط ثابتة لا تستطيع أن تفككها تراكيز ملحية وحتى 100 درجة مئوية لا تستطيع أن تفككها

وحتى تركيز 1mol من الحمض لا يستطيع تفكيكها، ومن المعلوم أن 1 مول من الحمض يحرق البروتين ولكن لا يستطيع تفكيك هذه الرابطة S-S.

عندها انفسنت اكتشف أن الجسور الكبريتية لم تفكك بإضافة الملح، ولذا فإن السبب في عدم عودة البروتين لبنيته كانت الجسور الكبريتية (الشرط الأساسي لنجاح التجربة ألا يكون جسور كبريتية في هذه السلسلة).

عندها قام العالم انفسنت بتعديل بسيط على التجربة أضاف مع 8 مول من البولة مادة مرجعة هي بيتا مركبتو إيتانول.

بعد اضافة المادة المرجعة ازال الجسور الكبريتية وعاد السيستين الى سيستئين.

ثم قام بازالة المادة الملحية والمادة المرجعة ووضع مكانها المصل الفيزيولوجي وقاس الفاعلية فكانت 100%، أي أن البروتين استرد عافيته وعاد إلى بنيته الثالثية الوظيفية الصحيحة.

إن عودة البروتين إلى نمط التفافه الدقيق ليس بالأمر السهل.

سؤال يطرح نفسه:

- ✓ لماذا دائماً يلتف البروتين بنفس الطريقة وبالتالي يملك نفس البنية الفراغية وبالتالي يملك الوظيفة المُناطة به؟ لماذا لا يلتف كل مرة بطريقة مختلفة وبالتالي يغير وظيفته؟!
- ✓ الجينات هي مصدر المعلومات اللازمة لصناعة البروتين، فهذا البروتين بعد أن تمت صناعته قام بتبنّي البنية الثالثية بناء على بنيته الأولية وتسلسل حموضه الأمينية.

لو كان كل بروتين يلتف كما يشاء لما كان هناك حياة.

لو أراد البروتين تجربة كل احتمالات الالتفاف، فكم تبلغ هذه الاحتمالات وكم من الوقت تستغرق لتجريبها؟

مثال: ليكن لدينا سلسلة ببتيدية فيها 100 حمض أميني (سلسلة بسيطة وصغيرة)

هناك إمكانية للدوران في الحمض الأميني ومنه يأخذ البروتين بنيته الأحادية والثنائية والثلاثية، لو كان كل حمض أميني قادر على اتخاذ 3 مواضع فقط أي (3 أوضاع فراغية)

السؤال: ما الاحتمال للبروتين كي يختار بنيته؟

الجواب: الاحتمال هو $3^{100}=5\times10^{47}$، هذه هي عدد الاحتمالات التي يمكن للبروتين ان يجربها كي يختار بنيته

السؤال الثاني: ما هو الزمن المستغرق لتجربة كامل هذه الاحتمالات؟
لنفرض أن كل تجربة (احتمال) يستغرق 10^{-13} ثانية، كم يستغرق 5×10^{47} احتمال ؟

$5\times10^{47}\times10^{-13}=5\times10^{34}$ ثانية.

بتحويل ثانية 5×10^{34} لسنين نجد أنها تحتاج مليارات السنين !
وهذا الاحتمال لسلسلة 100حمض إذن ماذا لو كانت ألف حمض أميني؟؟ وماذا لو كان لكل حمض أميني اكثر من ثلاث مواضع؟!

ذوبان البروتين:

تؤثر العديد من العوامل على ذوبانية البروتين مثل درجة الحموضة وتركيز الأملاح الموجودة ودرجة الحرارة ووجود مذيبات عضوية أو أملاح معادن ثقيلة وعوامل أخرى.

درجة الحموضة:

لكل بروتين نقطة تعادل كهربائي Isoelectric point وهي درجة الحموضة التي تكون فيها شحنة البروتين تساوي الصفر، وتكون عندها الذوبانية أقل ما يمكن أي لصالح الترسيب.

إذن كلما ابتعدنا عن هذه النقطة في الاتجاهين القلوي والحامضي كلما زادت الذوبانية.

نقطة التعادل الكهربائي pI لعدة بروتينات شائعة.

البروتين	Isoelectric point pI
ببسين	1.0 >
ألبومين (البيض)	4.6
الأنسولين (البقر)	5.4
فايبرونوجين (الإنسان)	5.8
كاما- كلوبيولين (الإنسان)	6.6
مايوكلوبين (الحصان)	7.0
الهيموكلوبين (الإنسان)	7.1

تركيز الاملاح المذابة في المحلول:

مثل أملاح كبريتات الأمونيوم وكبريتات الصوديوم وكلور المغنزيوم.

- التراكيز القليلة من الملح قد تزيد الذوبانية للبروتين ويعتقد أن ذلك نتيجة تغير في تأين وشحنة مجموعات R للحموض الامينية في البروتين وهذا يؤثر على ذوبانية البروتين، وهذا يسمى الإذابة بالتمليح Salting in.
- التراكيز المرتفعة من الأملاح فإنها ترسب البروتين وذلك لأنها ستنافس البروتين على جزيئات الماء المحيطة به وستخرب بنيته الثالثية، وهذا يسمى الترسيب بالتمليح Salting out.

المذيبات العضوية:

تقل الذوبانية للبروتين بوجود مذيبات عضوية مثل الأسيتون والميتانول والإيتانول، لذا قد تستخدم هذه المذيبات لترسيب البروتين (وهذا يؤدي لتمسخ البروتين غالبا).

درجة الحرارة:

تساعد الحرارة على تجلط وتجمع البروتينات، لذا تتكون نتيجة التجلط مواد غير مذابة، ويكون البروتين أسهل تجلطاً في حال كان في نقطة التعادل الكهربائي.

المعادن الثقيلة:

مثل كلور الزئبق ونترات الفضة قد تؤدي إلى ترسب البروتين نتيجة ارتباطها مع مجموعات الكبريت فيه، وهذا يؤدي أيضاً لتمسخ البروتين.