الفصل الثالث

البروتينات والاحماض الامينية

Proteins and amino acids

البروتينات : هي مركبات عضوية تنتشر في جميع الخلايا والانسجة الحية ، فهي تؤلف نصف وزن الجسم الجاف ، تحتل هذه الجزيئات المرتبة الاولى في الجسم لان لها خصائص لايشابها اي نوع اخر من المركبات الحيوية ، لذا فهي تستحق اسمها المأخوذ من الكلمة اللاتينية proteios والتي تعني المرتبة الاولى .

تؤلف البروتينات عدد من المكونات الحيوية في الجسم منها الهيموغلوبين ، الالبومين ، الانزيمات ، الهرمونات ، منظمات الجينات ، اذ تقوم بعدة ادوار منها نقل المكونات الى سائر انحاء الجسم من خلال جهاز الدوران ، كذلك تساعد في حصول التفاعلات الحيوية وتنظيمها داخل الجسم ، وتتحكم باشكال البناء والترميم وتحول الطاقة . والجدول التالي يوضح عدد من البروتينات ووظائفها الحيوية .

الصنف	الامثلة
الانزيمات	التريبسين ، البيبسين
الهرمونات	الانسولين
البروتينات الخازنة	زلال البيض ، الكازئين
البروتينات الناقلة	الهيموغلوبين
البروتينات المتقلصة	الميوسين
البروتينات الوقائية	الكلوبيولين
السموم	سم الثعبان
البروتينات التركيبية	الكولاجين

المميزات الرئيسية للبروتينات :-

١- البروتينات جزيئات كبيرة ذات اوزان جزيئية عالية تتراوح بين ٥٠٠٠ الى عدة ملايين من الدالتونات

٢- يشترك في تركيبها عشرون حامض امينى ترتبط مع بعضها بواسطة الاواصر الببتيدية (اواصر الامايد)

٣- تتميز البروتينات بفعاليتها العالية نظرا لاحتوائها عدد كبير من الحوامض الامينية المختلفة في التركيب الكيميائي .

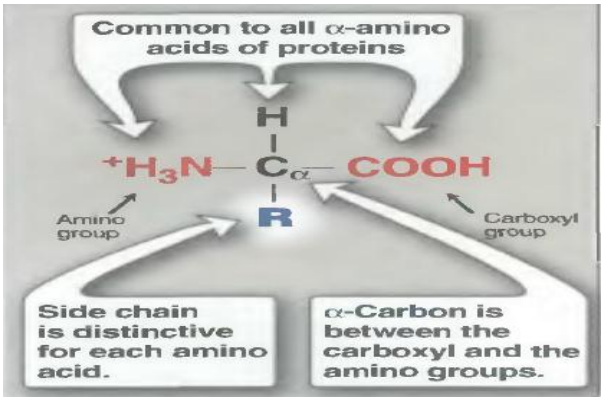
٤- تتميز البروتينات بامتلاكها اربع اشكال تركيبية (اولي ، ثانوي ، ثالثي ، رابعي)

٥- تفقد البروتينات فعاليتها الحيوية وتتحول الى مركبات غير فعالة (تفقد خواصها الحيوية) بسبب تأثر اشكالها التركيبية وخصوصا الثالثي والرابعي بالمؤثرات الفيزيائية والكيميائية .

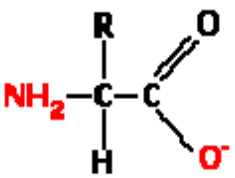
الاحماض الامينية Amino acids

تتألف الجزيئات البروتينية من وحدات بنائية اساسية يطلق عليها الاحماض الامينية ، وتتكون الجزيئة البروتينية من عدد كبير من الحوامض المرتبطة مع بعضها باواصر ببتيدية مكونة مركبات بوليمرية ، ولهذا تكون البروتينات ذات اوزان جزيئية عالية .

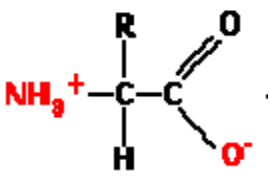
تتألف الاحماض الامينية من مجموعة كاربوكسيلية واخرى امينية وذرة هيدروجين ومجموعة كاربونيلية R (السلسلة الجانبية Side chain) جميعها مرتبطة الى ذرة كاربون واحدة من نوع α-Carbone atom ، لذا تسمى هذه الحوامض ب α-amino acid ، وتختلف الاحماض الامينية باختلاف المجموعة R ، ويوجد في الطبيعة الكثير من الاحماض الامينية، الانه اهم (٢٠) حامض امينى هي التي تدخل في تركيب بروتينات الجسم .



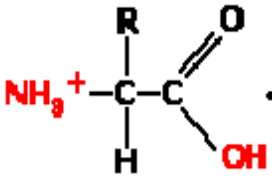
بالنظر لاحتواء الحوامض الامينية على مجموعتين الأمين والكاربوكسيل لذا فأنها تعتبر ثنائية القطب أي تعمل كحامض أو كقاعدة وتسمى امفوتيرية أي تفقد وتكتسب بروتون لهذا فأنها إذا وضعت في محاليل حامضية قوية PH = 1 تتقبل بروتون وتشحن بالشحنة الموجبة (+) ، تتأين مجاميع الامين . (NH_2) واذا وضعت في محاليل قاعدية قوية تفقد بروتون وتشحن بشحنة سالبة (-) تتأين مجاميع الكاربوكسيل . اما في نقطة التعادل الكهربائي (Pl-) هي النقطة التي تتساوى فيها عدد (+) مع (-) وتكون PH معينة لكل حامض أميني يكون الحامض الاميني بشكل ايون ثنائي القطب Zwitter ion ، وكما موضح بالامثلة التالية .



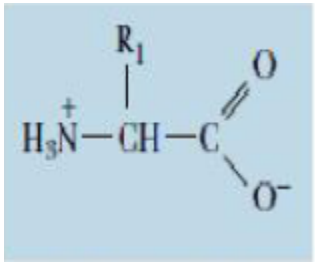
Ph > 7



Ph = 7



Ph < 7



Zwitter ion

النقطة او الدالة الحامضية التي يتحول فيها البروتين او الحامض الاميني الى صورة الايون ثنائي القطب Zwitter ion هي نقطة التعادل الكهربائي والتي تعرف على انها الدالة الحامضية التي يتواجد فيها الحامض الاميني او جزيئة البروتين على شكل ايون ثنائي القطب Zwitter ion ، وعند وضعه في مجال كهربائي وامرار التيار الكهربائي عليه سوف لاينجذب نحو اي من الاقطاب (يبقى في نقطة الاصل) . وقد استفيد من هذا التصرف في عمليات عزل وتنقية البروتينات والاحماض الامينية بطريقة الترحيل الكهربائي
(Electrophoresis) ، اذ ان الحوامض الامينية المشحونة بشحنة سالبة تتحرك وتنجذب نحو القطب الموجب ، اما المشحونة بشحنة موجبة فتنجذب الى القطب السالب . والمتعادلة الشحنة تبقى في نقطة الاصل .

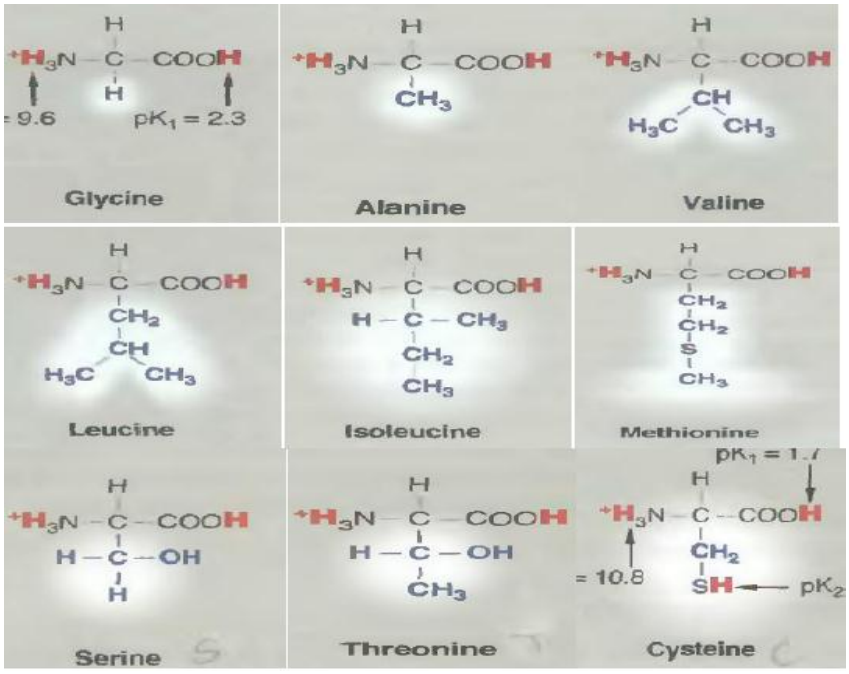
مميزات الاحماض الامينية

١- تملك سلوك امفوتيري (حامضي وقاعدي في نفس الوقت) وذلك لامتلاكها لمجاميع NH_2 , COOH
٢- تتواجد الحوامض الامينية بشكلها المتأين في السائل الخلوي عند الدالة الحامضية الفسيولوجية (pH=7.4)
٣- جزيئة الحامض الاميني او البروتين عندما تكون بشكل ايون ثنائي القطب سوف تكون مترسبة ، او تبقى في نقطة الاصل (لا تتحرك باتجاه الاقطاب الكهربائية) عند امرار التيار الكهربائي على محلولها المائي .

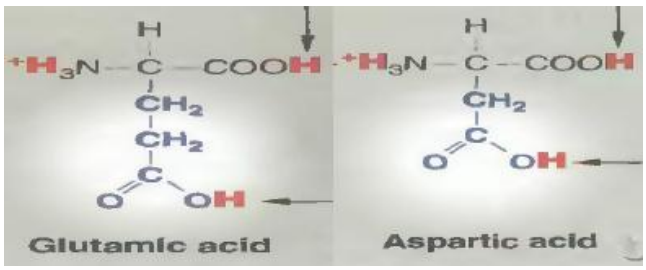
تصنيف الاحماض الامينية Classification of amino acids

يمكن ان تصنف الاحماض الامينية الى عدة تصانيف ، اما على اساس ما تحويه من مجاميع NH_2 ,COOH ، او على اساس تركيبها الالفاتي والاروماتي او الحلقي غير المتجانس ، او يمكن ان تصنف على اساس تفاعلاتها في المحاليل الحامضية ، القاعدية والمتعادلة .
التصنيف الاساسي المعتمد الذي يصنف الحوامض الامينية على اساس التركيب الكيميائي للمجموعة R وتفاعلاتها في المحاليل وكالتالي :

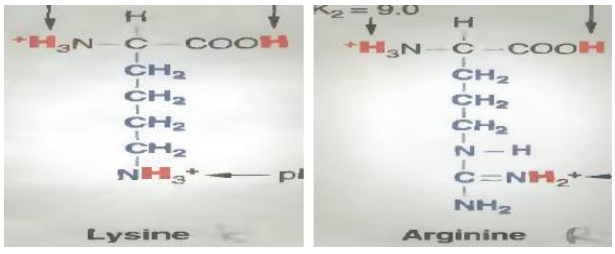
١- الحوامض الامينية الالفاتية Aliphatic amino acid : وتقسم الى اربعة اصناف ثانوية هي
A: الحوامض الامينية احادية الامين احادية الكاربوكسيل (متعادلة التفاعل) وتشمل :



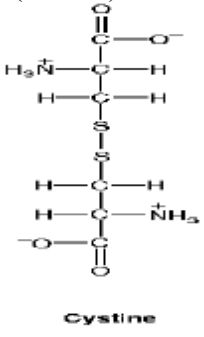
B : الحوامض الامينية احادية الامين ثنائية الكاربوكسيل (حامضية التفاعل) وتشمل :



C : الحوامض الامينية ثنائية الامين احادية الكاربوكسيل (قاعدية التفاعل) وتشمل :

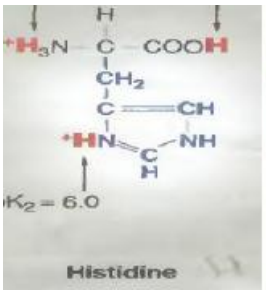


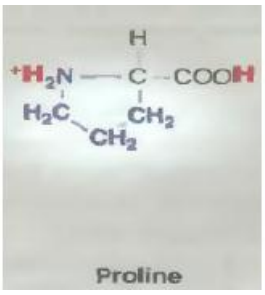
D : الحوامض الامينية ثنائية الامين ثنائية الكاربوكسيل (متعادلة)

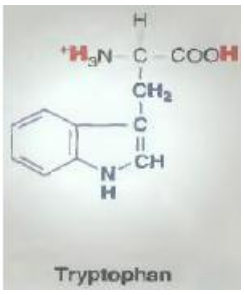


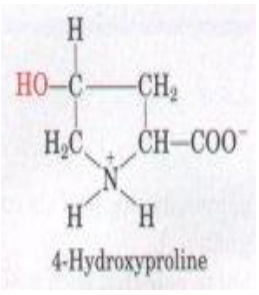
٢- الحوامض الامينية الاروماتية Aromatic amino acids (متعادلة التفاعل) وتشمل , Tyrosine
Phenylalanine

٣- الحوامض الامينية ذات الحلقة غير المتجانسة Heterocyclic amino acids (متعادلة التفاعل عدا الهستدين يعتبر قاعدي ضعيف) وتشمل:



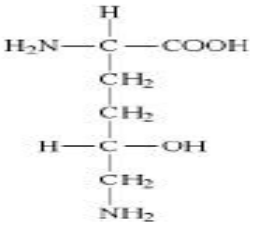




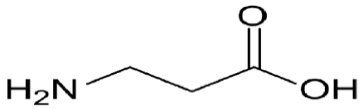


بالاضافة الى ذلك يوجد عدد من الحوامض الامينية المتواجدة بكميات قليلة في تركيب البروتينات منها مايأتي :

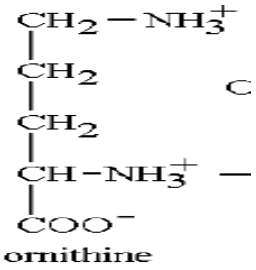
١- الحامض الاميني هيدروكسي لايسين Hydroxylysine :
يوجد فقط في بروتين الكولاجين والبروتينات ذات التركيب المشابه .



٢- الحامض الاميني بيتا الانين : يوجد في الفيتامين البانوثونيك اسد



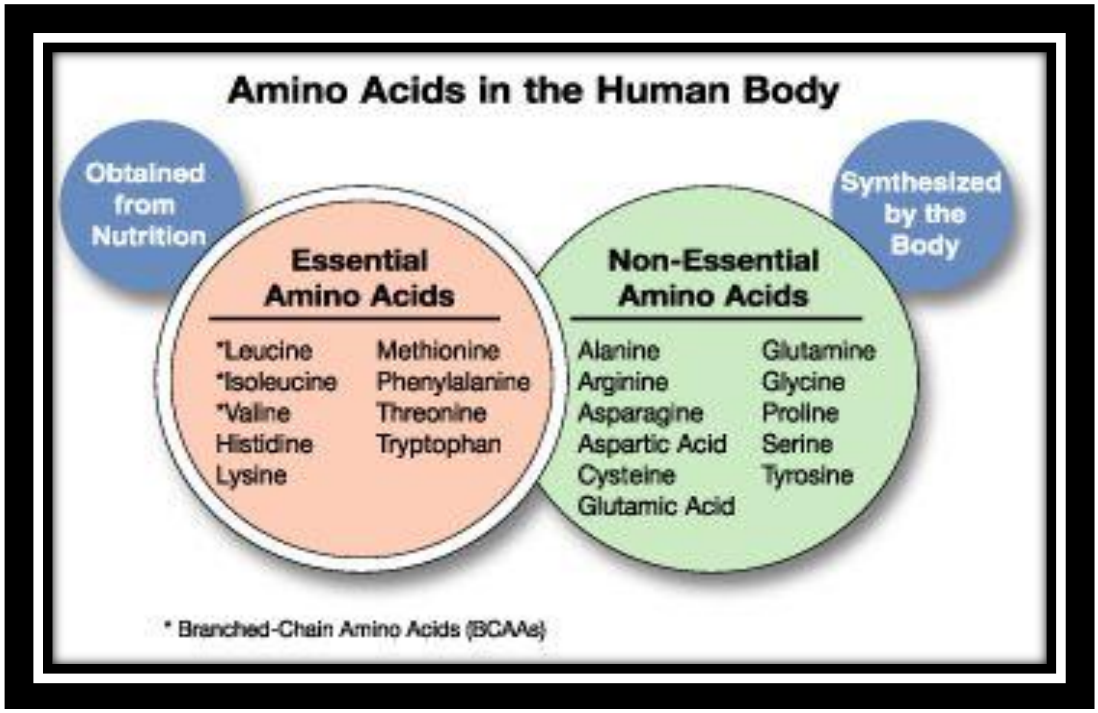
٣- الحامض الاميني الاورنثين : والذي يكون ذو تركيب اقل بذرة كاربون واحدة فقط من الايسين ، ويعتبر احد مكونات دورة اليوريا .



كذلك يمكن ان تصنف الاحماض الامينية على اساس قابلية تصنيعها في الجسم الى صنفين اساسيين هما :

١- **الأحماض الأمينية الأساسية Essential amino acids:** وهي الاحماض الامينية التي لا تصنع في الجسم ويجب ان تؤخذ عن طريق الغذاء ، وان نقصها يسبب مشاكل في تركيب البروتينات التي تدخل في تركيبها وتشمل : هيستدين ، ايزوليوسين ،ليوسين ،لايسين ،ميثونين ،فينيل الأنين ،ثريونين ، تربتوفان والفالين .

٢- **الاحماض الامينية غير الاساسية Non-Essential amino acids** : وهي الاحماض الامينية التي تصنع داخل الجسم من الاحماض الامينية الاساسية او مركبات اخرى ، وليس من الضروري تناولها في الغذاء وتشمل :جلايسين ،الانين ، سيرين، برولين ، حمض الجلوتاميك ، تيروسين ، حمض الاسبارتك ، سيستيين ، برولين ، سيسين



تفاعلات الحوامض الامينية Reaction of amino acids

ان التفاعلات التي تشترك بها الاحماض الامينية عائدة الى مجموعتي NH_2 , COOH لذا يمكن ان تقسم التفاعلات الى مجموعتين رئيسيتسن اعتمادا على المجموعة المتفاعلة .

A: التفاعلات المتضمنة لمجموعة الكاربوكسيل Reaction of (COOH-Group)

١- تكوين الاملاح Salt formation : تتفاعل الحوامض الامينية مع القواعد المركزة مثل KOH ,NaOH مكونة ملح الحامض الاميني والماء ، وكما مبين في المعادلة التالية :

٢- تكوين الاسترات (Ester formation(Esterfication :تتفاعل الاحماض الامينية مع الكحولات بوجود حامض الهيدروكلوريك وتكون الاستر المقابل ، وكما موضح بالتفاعل التالي :

$$H_3N^+ - CH_2 - COO^- \xrightarrow{HCl} Cl^- H_3N^+ - CH_2 - COOH \xrightarrow{C_2H_5OH} Cl^- H_3N^+ - CH_2 - COOC_2H_5$$

(Glycine)

٣- السحب الكاربوكسيلي Decarboxylation : تفقد الحوامض الامينية مجموعتها الكاربوكسيلية اذا سخنت مع هيدروكسيد الباريوم $Ba(OH)_2$ او Diphenyl amine وتعطي الامين المناظر ، وكما مبين بالتفاعل التالي:

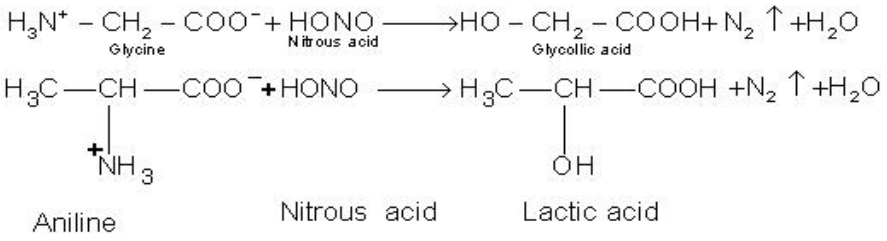
$$H_2N - CH_2 - COOH + Ba(OH)_2 \xrightarrow{\Delta} CH_3 - NH_2 + BaCO_3 + H_2O$$

(Glycine) (Methyl amine)

$$H_2N - \underset{\text{Alanine}}{\underset{|}{\overset{CH_3}{CH}}} - COOH + Ba(OH)_2 \xrightarrow{\Delta} CH_3 - CH_2 - NH_2 + BaCO_3 + H_2O$$

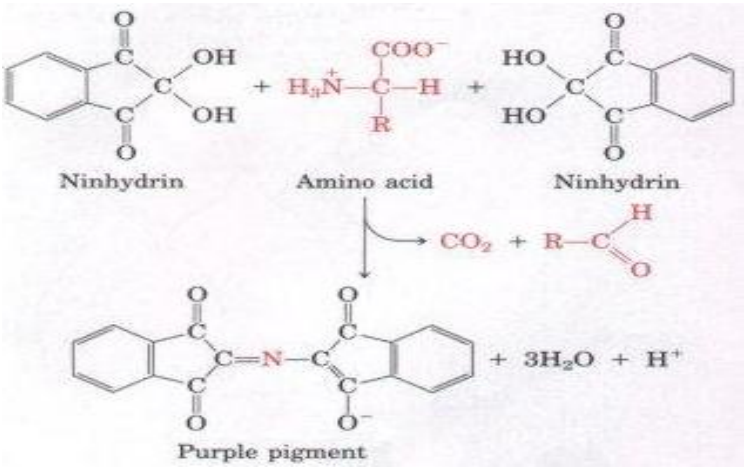
B : التفاعلات المتضمنة لمجموعة الامين (Reaction of (NH2- Group

١- التفاعل مع حامض النتروز Reaction with HNO_2 : يتحد حامض النتروز مع المجموعة الامينية للحامض الاميني معطي الحوامض الهيدروكسيلية المقابلة ومحرر غاز النيتروجين ، ويمكن ان يستخدم هذا التفاعل في التقدير الكمي للحوامض الامينية وتقدير عدد المجاميع الامينية الموجودة في جزيئة بروتين او بيبتيد معين ، وذلك من خلال تقدير كمية غاز النايتروجين المتحرر ، اذ تتحرر جزيئة نايتروجين لكل حامض اميني واحد وكما في المعادلة التالي :

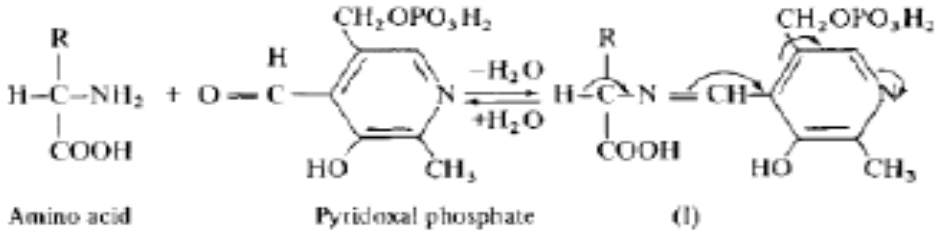


٢- التفاعل مع النهيدرين Reaction with ninhydrine: يحصل هذا التفاعل من خلال المجاميع الامينية α-amino acid الموجودة في الحوامض الامينية الحرة (عدا البرولين والهيدروكسي برولين) والبروتينات والبيبتيدات الحاوية على مجاميع الامين الحرة ، ويعتبر هذا التفاعل بمثابة كشف عام عن جميع البروينات والاحماض الامينية الحاوية على مجموعة امين حرة غير مرتبطة

يتم هذا التفاعل على شكل خطوتين ، الاولى يتفاعل بها الحامض الاميني مع جزيئة النهيدرين محولا اياه الى الديهايد بعد فقدان مجموعة الامين على شكل جزيئة امونياNH_3 وتكوين CO_2 ,H_20, Hydrantine ، اما الخطوة الثانية يتحد بها جزيئة اخرى من النهيدرين مع الامونيا والهيدرانتين المتكونين بالخطوة الاولى . وكما مبين بالتفاعل ادناه :

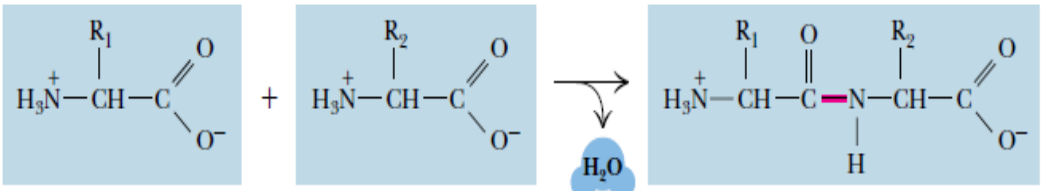


٣- التفاعل مع الالديهايدات الاروماتية Reaction with aromatic aldehyde :
تتحد الحوامض الامينية عن طريق مجموعتها الامينية مع الالديهايدات الاروماتية تحت الظروف القاعدية مكونة قواعد شف Schiff Base . وكما مبين بالتفاعل التالي :



البروتينات Proteins

البروتينات : هي عبارة عن جزيئات بوليمرية كبيرة مكونة من عدد من الوحدات البنائية الصغيرة تسمى الاحماض الامينية ، اذ ترتبط هذه الوحدات مع بعضها بواسطة اواصر ببيتيدية (Peptide bond) ، وهي من الناحية العضوية اواصر امايدية تنشأ من التفاعل بين مجموعة الكاربوكسيل للحامض الاميني الاول مع مجموعة الامين للحامض الاميني الثاني بعد فقدان جزيئة ماء .



تعرف الاصرة الببيتيدية على انها الاصرة التساهمية الناتجة من اتحاد مجموعة الكاربوكسيل للحامض الاميني الاول مع مجموعة الامين للحامض الاميني الثاني بعد فقدان جزيئة ماء وبوجود عامل مكثف قوي ، وهي اصرة صلدة لاتسمح بالدوران الحر للمجاميع المعوضة حولها.

ان اتحاد حامضيين امينيين باصرة ببيتيدية واحدة تعطي مركب ببيتيدي ثنائي Dipeptide ، اما اذا ارتبط ثلاث احماض امينية فالمركب الناتج ببيتيد ثلاثي Tripeptide ، واذا اربعة ببيتيد رباعي Tetrapeptide وهكذا ، اما اذا ارتبط ١٠ احماض امينية فيسمى المركب ببيتيد متعدد Polypeptide ، اما اذا اصبح عدد الحوامض الامينية اكثر من ٤٠ حامض اميني عند ذلك يسمى المركب الناتج بروتين كذلك اذا تكونت الجزيئة من ارتباط عدد من السلاسل الببتدية المتعددة مع بعض تسمى الجزيئة الناتجة بالبروتين .

ان اسم الببيتيد يقرء من اليسار الى اليمين ،اذ ان الحامض الاميني الاول يدل على الطرف النايتروجيني (النهاية الامينية) N-Terminal ، اما الحامض الاميني الاخير يدل على الطرف الكاربوني (النهاية الكاربوكسيلية) C-Terminal . ففي حالة مزج ثلاث احماض امينية وبنسب متساوية مع بعض فانها سوفي تعطي عدد من الببتيدات المختلفة في التركيب وكما مبين :

Gly + Ala + Phe ⟶ Gly-Ala-Phe (glycylalanylphenylalanine)
Gly-Phe-Ala (glycylphenylalanylalanine)
Ala-Gly-Phe (alanylglycylphenylalanine)
Ala-Phe-Gly (alanylphenylalanylglycine)
Phe-Gly-Ala
Phe-Ala-Gly

N-terminal(NH_2-free) ⟶Gly-His-Pro-Cys-Ala-Val-Met-Lys-Phe ⟵ C-terminal(COOH-free)

تصنيف البروتينات Classification of Protein

ان اغلب الطرق المعتمدة في تسمية وتصنيف المركبات الكيميائية تعتمد اساسا على مكوناتها وتركيبها الكيميائي ، اما طرق تسمية المركبات البروتينية فتعتمد على مصادر وجودها واخرى تعتمد على خواصها الفيزيائية مثل الذائبية والشكل والبعض تعتمد على المكونات الكيميائية للبوتينات ، وابسط الطرق لتصنيف البروتينات تقسمها الى صنفيين اساسيين هما :

١- البروتينات البسيطة Simple proteins : وهي المركبات البروتينية التي عند تحللها في المحاليل الحامضية او القاعدية او بواسطة الانزيمات تعطي حوامض امينية فقط ، ويشمل هذا الصنف مجموعة كبيرة من البروتينات اهمها :

A: البروتامينات Protamines : هي مركبات بروتينية ذات صفات قاعدية قوية توجد عادتا مقترنة مع الحوامض النووية او مركبات بروتينية اخرى، وتكون ذات اوزان جزيئية واطئة ، وتحتوي على حوامض امينية محددة مثل الارجنين ، وهي لاتتجلط بفعل الحرارة .

B : الهستونات Histones : وهي مركبات بروتينية تشبه البروتامينات في صفاتها الفيزيائية وتقترن كذلك مع الحوامض النووية ، وتحتوي على نسبة عالية من الحوامض الامينية القاعدية ، وتذوب في الماء والحوامض المخففة لكنها لاتذوب في محلول الامونيا المخفف .

C: الالبومينات Albumins : هذا النوع من البروتينات يضم مجموعة كبيرة من البروتينات التي تذوب في الماء والمحاليل الحامضية المخففة ، تترسبهذه البروتينات باستخدام محلول كبريتات الامونيوم المشبعة $(NH_4)_2SO_4$ ، وتتجلط بالحرارة ، وتوجد عادتا في الدم والحليب والبيض ، مثال عليها زلال البيض Ovalbumin وزلال مصل الدم Serum albumin .

D : الكلوبيولينات Globulins : هذا النوع من البروتينات ينتشر بكثرة في النباتات والحيوانات وتكون غير ذائبة او قليلة الذوبان في الماء بينما تكون ذائبة في المحاليل الملحية وتترسب في محلول كلوريد الصوديوم المشبع وتتجلط بفعل الحرارة مثال عليها كلوبيولين المصل serum globulin وتكون ذو دور دفاعيا و وقائي تتركب منها الاجسام المضادة التي تقاوم دخول الاجسام الغريبة الى الجسم .

E : الكولاجين Collagen : يعتبر هذا البروتين من البروتينات الاساسية التي تدخل في تركيب الانسجة الرابطة connective tissue وهي غير ذائبة في الماء وتقاوم الانزيمات الهاضمة ، ويتميز هذا النوع من البروتينات باحتوائه على كمية كبيرة من الحامضيين الهيدروكسي برولين والهيدروكسي لايسين ، ويوجد هذا البروتين في الجلد والشعر ، الاظافر وكافة الانسجة الرابطة .

F : الكلوتيلين Glutelins : توجد هذه البروتينات في بذور النباتات وتتصف بذائبيتها في المحاليل الحامضية والقاعدية المخففة ، الا انها لاتذوب في المحاليل المتعادلة ، وتوجد بشكل كبير في حبوب الحنطة والذرة والشعير والرز ، وتحوي على نسبة عالية من الارجنين والبرولين والكلوتاميك اسد .

٢- البروتينات المقترنة Conjugated proteins : هي البروتينات التي عند تحللها تعطي مركبات عضوية او لاعضوية بالاضافة الى الحوامض الامينية ، حيث يسمى الجزء العضوي او اللاعضوي (الجزء المقترن) المجموعة المترابطة prosthetic group ، وهذا الصنف من البروتينات يشمل الانواع التالية :

A : البروتينات المفسفرة Phosphoproteins :هي البروتينات التي تكون متحدة مع حامض الفسفوريك والذي يرتبط عادتا مع الحامض الاميني السيرين او الثريونيين (Ser , Thr) برابطة استرية ، ويوجد هذا النوع من البروتينات في الحليب والبيض والكبد . ويعتبر بروتين الكازائين Casein في الحليب و الفاتلين vitellins في صفار البيض من اشهر انواع هذه البروتينات .

B: الميوكوبروتين Mucoproteins :وتسمى كذلك البروتينات السكرية Glucoproteins اذ تكون مرتبطة مع جزء سكري ، وتكون هذه البروتينات ثابتة اتجاه الحرارة والحاليل الملحية ، ويمكن ترسيبها بالحوامض والايثانول ولاتترسب باستخدام محلول (Tri chloro acetic acid) توجد هذه البروتينات في الجلد والعظام والانسجة الرابطة والبيض والدم .

C: الكروموبروتين Chromoproteins :تكون المجموعة المترابطة في هذا النوع من البروتينات من المركبات الملونة ، وهذا سبب تسميتها بهذا الاسم ، ويشمل هذا الصنف من البروتينات الصبغات التنفسية للحيوانات الفقرية واللافقرية مثل الهيموغلوبين Hemoglobin، والهيموسيانين Hemocyanine، الهيموراثرين Hemoerythrins ، المياكلوبين Myoglobulin

D : النيوكليوبروتين Nucleoproteins :والتي تسمى البروتينات النووية ، وتتألف من الهستونات مرتبطة مع الحوامض النووية وتوجد في السايتوبلازم ونواة الخلية ، وتؤلف الجزء الاكبر من مكونات الكروموسومات .

E : البروتينات الدهنية Lipoproteins : وهي المركبات البروتينية التي تكون مرتبطة مع المركبات الدهنية على شكل كليسيريدات ثلاثية او دهون فوسفاتية او كوليستيرول حر او مرتبط مع حامض دهني على شكل كوليسترول

استر . تعتبر هذه البروتينات كنواقل للمركبات الدهنية في الدم ، وتوجد على اربعة اصناف اعتمادا على كثافتها (كثافتها تعتمد على كمية البروتين الموجود فيها ، كلما زادت كمية البروتين زادت الكثافة) وهي :
البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة جدا Very Low Density Lipoproteins (VLDL) ، البروتينات الدهنية واطئة الكثافة Low Density Lipoproteins (LDL) ، البروتينات الدهنية عالية الكثافة High Density Lipoproteins (HDL) و الكايلومايكرون Chylomicrone .

تصنيف البروتينات على اساس قابلية الذوبان

يمكن ان تصنف البروتينات حسب هذا التصنيف الى صنفيين اساسيين هما :

١- البروتينات الليفية Fibrous proteins: وهي البروتينات التي تكون على شكل سلاسل ببتيدية منفردة طويلة السلسلة ، تمتاز بمقاومتها لتحلل المائي والانزيمي وتعتبر من التراكيب الاساسية في انسجة الجسم للكائن الحي مثل الشعر ، الصوف و الاظافر .

٢- البروتينات الكروية Globular proteins : وهي البروتينات التي تكون على شكل سلاسل مطوية وذات انحناءات ، وتمتاز بسهولة ذوبانها في الماء ، وتمتلك البروتينات التي تعود لهذا الصنف خصوصية عالية في فعاليتها الحيوية وتتمثل بالانزيمات والهرمونات والبروتينات الناقلة مثل الهيموغلوبين .

التراكيب البنائية للبروتينات

ان أحد المفاهيم الأساسية لفهم عمل البروتينات هو ادراك ان بنية جزيئات البروتين هي التي تحدد وظيفته ، بالمقابل تتحدد بنيته الثلاثية الأبعاد عن طريق تسلسل حوامضه الامينية .ويمكن دراسة البنية الأساسية للبروتين عن طريق اعتبار جزيئات البروتين تملك أربع مستويات بنائية بدءا من الوحدات البنائية الأساسية أي الحوامض الأمينية حتى الوصول إلى البروتين النهائي وان الاختلاف بين هذه المستويات يعتمد على طبيعة الروابط المشاركة في تكوين كل مستوي بنائي . وكالتالي :

1- التركيب البنائي الاولي (الابتدائي) Primary structure

يعرف التركيب الاولي للبروتينات بواسطة الاواصر التساهمية الناتجة من ارتباط وحدات الاحماض الامينية مع بعضها (الاواصر الببتيدية) المكونة للسلاسل البروتينية ضمن تسلسل تعاقبي محدد . ان البروتينات الموجودة ضمن نفس الجنس من الكائنات الحية تملك نفس الترتيب من الاحماض الامينية الا في حالة حصول طفرات وراثية (mutation) ، فأنه يؤدي الى تغير واحد او اكثر من الحوامض الامينية ضمن السلسلة البروتينية ، الهيموغلوبين الطبيعي يحوي على الحامض الاميني Glu في الموقع (٦) من السلسلة لذا تكون الجزيئة كروية ، الا انه في حالة فقر الدم المنجلي فيحل الحامض الاميني Val في هذا الموقع لذا يصبح شكل جزيئة الهيموغلوبين منجلي . هناك عدد من الطرق الكيميائية والانزيمية التي يمكن من خلالها التعرف على تسلسل الاحماض الامينية ضمن السلاسل الببتيدية سوف نتطرق لها فيما بعد .

2- التركيب البنائي الثانوي Secondary structure

يتكون التركيب البنائي الثانوي من خلال الاواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين مجموعة الكاربونيل (C=O) ومجموعة الامين (N-H) العائدتان الى الاواصر الببتيدية للسلاسل الببتيدية والبروتينات ، وكما في الشكل التالي :

ان هذه الروابط تعطي نوعين من التراكيب العامة لجزيئات البروتين هي :

A: التركيب الحلزوني الفا α-helical structure : ان هذا التركيب يتميز بشكله الذي يشبه العود rod-like ، اذ ان الوحدات الاساسية للسلسلة الببتيدية تكون متجهة الى الداخل (ملتفة بقوة داخل العود) اما المجاميع R للحوامض الامينية فتتجه الى خارج التركيب الحلزوني ، وتعمل الاواصر الهيدروجينية على زيادة استقرارية التركيب الحلزوني . ومن الجدير بالذكر ان كل مجموعة كاربونيل (C=O) ترتبط مع مجموعة الامين (N-H) للحامض الاميني الرابع في السلسلة من خلال التسلسل التعاقبي ، وذلك لان الحامض الاميني (١) يكون قريب من الحامض الاميني (٤) من خلال الالتفاف الحلزوني ، اما الحامض الاميني (٢) فيكون معاكس الحامض الاميني (١) مما لايتيح المجال لتكوين الاواصر الهيدروجينية بينهما .مثال على هذا التركيب بروتين الكولاجين .

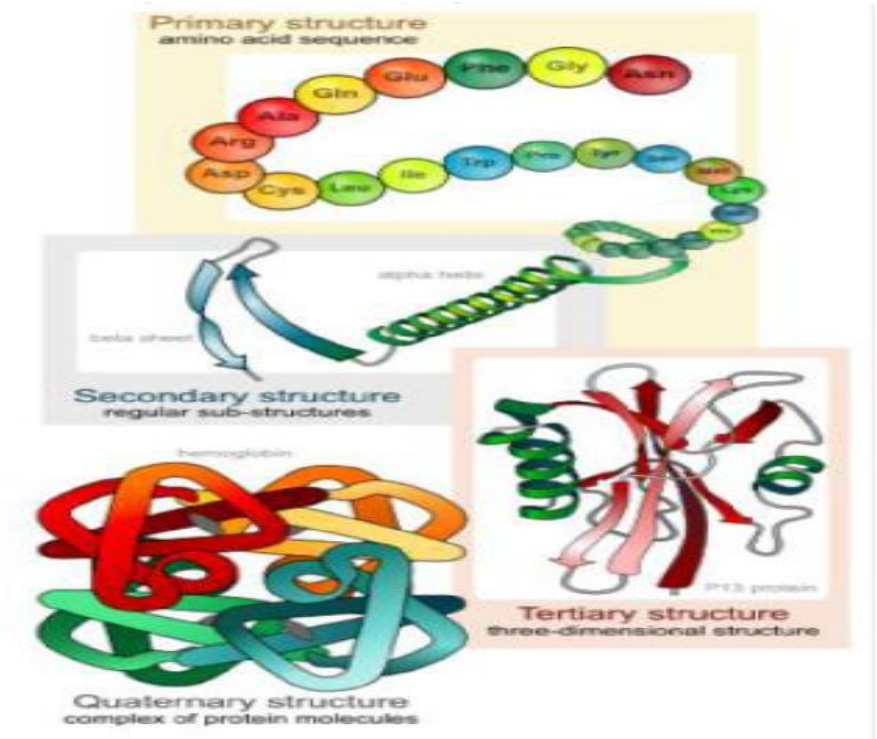
B: تركيب الصفائح المثنية Pleated sheets structure : تكون السلاسل في هذا التركيب على شكل صفائح ، اذ تكون السلاسل منتشرة بصورة كاملة ، ويزداد استقرار هذا التركيب من خلال الاواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين السلاسل المختلفة ، بالاضافة الى الاواصر الهيدروجينية للاواصر البيتيدية ضمن نفس السلسة البيبتيدية ، مثال على هذا التركيب جزيئات بروتين الحرير Fibroin .

3- التركيب البنائي الثالثي Tertiary structure :

يتميز هذا التركيب بأنه يحدد الشكل النهائي لجزيئات البروتين ، ويتميز هذا التركيب بأنه المجاميع القطبية للسلاسل البيبتيدية في الشكل الحلزوني تتجه الى الخارج والمجاميع غير القطبية تتجه للداخل ، مما يقلل من احتمال تلامس المجاميع الهيدروفوبية مع الماء ، وتكوين الاواصر الهيدروفوبية بين هذه المجاميع يساعد على تثبيت هذا التركيب ، كذلك يتميز هذا التركيب بتكوين الاواصر الايونية من خلال تجاذب الشحنات الموجبة مع السالبة للمجاميع الجانبية R (مثل مجاميع COO- للحوامض الامينية Glu , Asp ومجاميع $NH3^+$ للحوامض الامينية Lys , Arg) ويمكن ان تسمى هذه القوى بالرابطة الملحية ، كذلك يحوي هذا التركيب على الاواصر الهيدروجينية الناشئة بين مجاميع R للاحماض الامينية ضمن السلاسل المختلفة . وكما مبين بالشكل التالي .

4 - التركيب البنائي الرابعي Quaternary structure

يترتب التركيب الرابعي للبروتينات من خلال تجمع التراكيب الحلزونية او الصفائح المثنية المفردة لتتجمع مع بعضها البعض وتكوين تركيب ثلاثي الابعاد لجزيئة البروتين ، ففي هذا المستوي تترابط الوحدات (السلاسل البيبتيدية) subunit مع بعضها بروابط غير تساهمية لتكوين مركب بروتيني فعال ومتخصص . مثال على ذلك جزيئة الانزيم Phosphorylase تتكون من سلسلتين متماثلتين لاتقوم اي منهما بدور الانزيم وانما يجب وجودهما مع بعض للحصول على الفعالية الخاصة بالانزيم ، كذلك في حالة بروتين الهيموغلوبين الذي يتكون من اربع سلاسل (α2,β2) ترتبط مع كل منهم مع heme (Fe) . لذلك تشارك الشحنات المتعاكسة للسلاسل البيبتيدية والاواصر الهيدروجينية بين السلاسل المختلفة على استقرار هذا التركيب .



مسخ البروتينات Denaturation

او مايسمى باتلاف الجوهر الطبيعي للبروتين ، تتحول جزيئات البروتين الى مواد قليلة الذوبان وغير فعالة عند تعرضها لبعض الظروف ، ان سبب حدوث عملية مسخ البروتين هو اختلال التركيب الثانوي والثالثي للبروتينات ، من العوامل المسببة لمسخ البروتين :

- التعرض للعوامل المختزلة والمؤكسدة والتي تسبب تحطم الاواصر ثنائية الكبريت .
- تغيير او زيادة الدالة الحامضية للوسط الذي يوجد فيه البروتين .
- زيادة درجة الحرارة
- التعرض الى الاشعة

تحليل الاحماض الامينية في جزيئة البروتين Amino acid analysis

يمكن التعرف على الحوامض الامينية الموجودة في السلاسل البيبتيدية لجزيئات البروتين من خلال عدد من الطرق الكيميائية والانزيمية ، كذلك يمكن التعرف على الحامض الاميني بالطرف الاميني N-Terminal والطرف الكاربوكسيلي C-Terminal للسلاسل البيبتيدية . يمكن تحليل السلسة البيبتيدية بصورة كاملة وتحرير الاحماض الامينية من خلال تحلل الاواصر البيبتيدية بالطرق الكيميائية باستخدام محلول حامضي او قاعدي .

١- **تحلل السلاسل البيبتيدية باستخدام محلول حامضي** : في هذه الطريقة يحصل تكسير عشوائي لجميع الاواصر البيبتيدية باستخدام المحلول (6 N HCL) وبدرجة حرارة (110 C˚) لمدة (72 ساعة) اذ يحصل تكسير لجميع الاواصر البيبتيدية بين الحوامض الامينية وينتج عن ذلك كلوريدات الحوامض الامينية ماعدا الحامض الاميني التربتوفان الذي يتكسر في نفس الوقت كليا ليتحول الى مركب اخر وكذلك يحصل فقدان كمية محددة من السيرين والفالين .

٢- **تحلل السلاسل البيبتيدية باستخدام محلول قاعدي** : في هذه الطريقة يحصل تحلل للاواصر البيبتيدية باستخدام المحلول القاعدي (4 N NaOH) وبدرجة حرارة (100 C˚) ولمدة (4 - 8 ساعات) ، الا انه هذه الطريقة تستخدم وبحدود ضيقة ولعدة اسباب منها :

I: تكسر الاحماض الامينية التالية (Arg , Thr , Ser , Cys , Cystine)

II: تتدمر باقي الاحماض الامينية بسبب سحب مجاميع الامين منها

III: تكون مزيج راسيمي للاحماض الامينية Rasimic mixture يصعب فصله بطريقة الهجرة الكهربائية Electrophoresis .

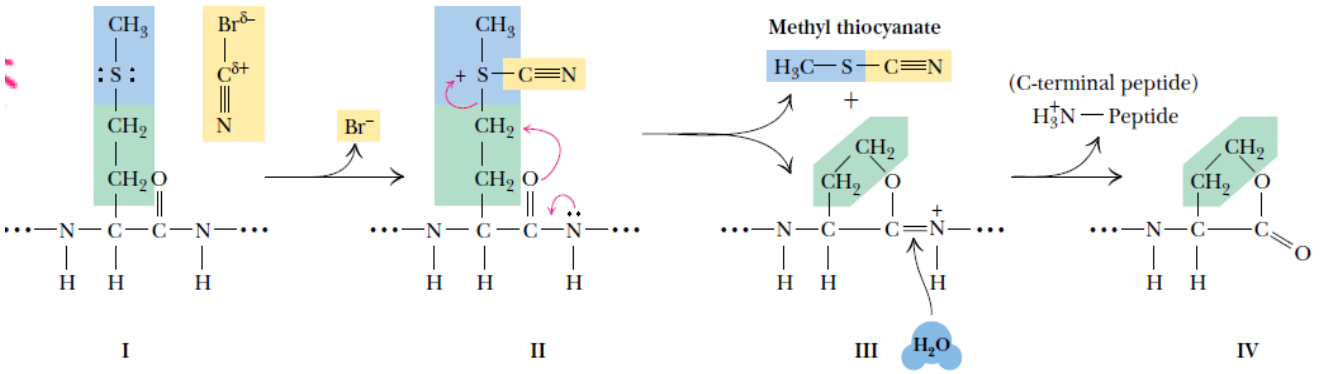
الا انه الفائدة الوحيدة لهذه الطريقة هي تقدير كمية الحامض الاميني التربتوفان والذي يفقد عند التحلل الحامضي .

التحلل الجزئي للسلاسل البيبتيدية بفعل الانزيمات

لمعرفة تسلسل الاحماض الامينية في السلسلة البيبتيدية يفضل تقطيع السلاسل البيبتيدية الطويلة الى سلاسل اقصر ليسهل تحديد تعاقب الاحماض الامينية فيها ، اذ يمكن تجزيء السلاسل البيبتيدية الطويلة او جزيئات البروتين الى اجزاء صغيرة نتيجة تحلل الاواصر البيبتيدية بفعل الانزيمات ، باستخدام نوع من الانزيمات الداخلية التأثير والتي تسمى Endopeptidase وتضم مجموعة من الانزيمات منها : **(pepsin , tyrpsin , chemotyrpsin , elastase)** .

- **pepsin :** يعمل على كسر الاصرة البيبتيدية ضمن السلسلة في الموقع الذي توجد فيه الاحماض الامينية الاروماتية (Trp,Phe ,Tyr) . وبالتالي يحرر سلاسل قصيرة تنتهي بهذه الاحماض الامينية في الطرف الامينى .
- **Tyrpsin :** يعمل على كسر الاصرة البيبتيدية ضمن السلسلة في الموقع الذي توجد فيه الاحماض الامينية **(Arg ,Lys)** وبالتالي يحرر سلاسل قصيرة تنتهي بهذه الاحماض الامينية في الطرف الكاربوكسيلي .
- **Chemotyrpsin:** يعمل على كسر الاصرة البيبتيدية ضمن السلسلة في الموقع الذي توجد فيه الاحماض الامينية الاروماتية (Trp,Phe ,Tyr) . وبالتالي يحرر سلاسل قصيرة تنتهي بهذه الاحماض الامينية في الطرف الكاربوكسيلي .
- **Elastase :** يعمل على كسر الاصرة البيبتيدية ضمن السلسلة في الموقع الذي توجد فيه الاحماض الامينية ذات المجاميع R الصغيرة (Gly , Ala , Ser)

كذلك يمكن استخدام الكاشف Cynogen bromide (CNBr) لكسر الاصرة البيبتيدية في الموقع الكاربوكسيلي للحامض الاميني المثيونين Met .

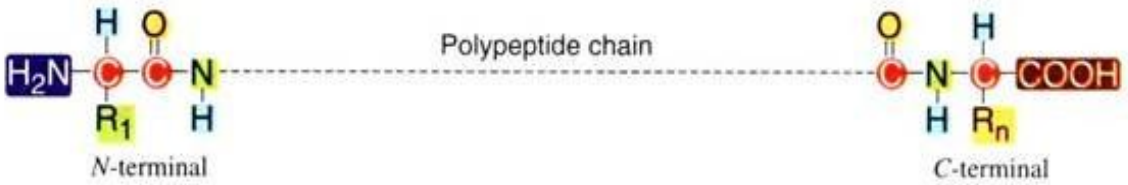


تحديد تعاقب الاحماض الامينية في السلاسل البيبتيدية

يمكن التعرف على تسلسل الاحماض الامينية ضمن السلاسل البيبتيدية من خلال عدد من الطرق الكيميائية والانزيمية ، وكذلك يمكن التعرف على الحامض الاميني بالطرف الاميني N-Terminal والطرف الكاربوكسيلي C-Terminal للسلاسل البيبتيدية .

استخراج الاحماض الامينية الطرفية للسلاسل البيبتيدية :

جميع السلاسل البيبتيدية المؤلفة لجزيئة البروتين تحوي على طرف اميني حاوي على مجموعة الامين الحرة ، ويطلق عليه الحامض الاميني الذي يمثل النهاية الامينية او الطرف النايتروجيني N-Terminal ، بينمايحوي الطرف الاخر على الحامض الاميني الحاوي على مجموعة الكاربوكسيل الحرة ويدعى الطرف الكاربوكسيلي او النهاية الكاربونية C-Terminal ، لذا يمكن معرفة عدد السلاسل التابعة لجزيئة البروتين من خلال معرفة عدد الحوامض الامينية الطرفية والتي تمثل النهاية الامينية والكاربوكسيلية .



A : تحديد الحامض الاميني في الطرف الكاربوكسيلي : ويمكن ان يتم ذلك بطريقين اساسيين هما :

١- **الطرق الكيميائية Chemical method** : تعتبر هذه الطريقة من اهم الطرق الكيميائية المستخدمة في تحديد الحامض الاميني في الطرف الكاربوكسيلي ، وتتلخص هذه الطريقة بتسخين السلسلة البيبتيدية او جزيئة البروتين مع الهايدرازين الجاف وبدرجة حرارة 100) (°C ولمدة (6 ساعات) فتتفكك الاواصر البيبتيدية لترتبط مع الهايدرازين ، ماعدا الحامض الاميني الطرفي الذي يحتل النهاية الكاربوكسيلية ، بسبب عدم ارتباط مجموعته الكاربوكسيلية بالاصرة البيبتيدية ضمن السلسلة البيبتيدية ، ويمكن فصل الحامض الاميني عن بقية مشتقات الهايدرازين للاحماض الامينية الاخرى باستخدام طرق الفصل ، وبالتالي التعرف على الحامض الاميني الذي يمثل النهاية الكاربوكسيلية . وكما في التفاعل التالي :

٢- **الطرق الانزيمية Enzymatic method** : يعتبر استخدام الانزيمات في تحديد الحوامض الامينية في الطرف الكاربوكسيلي من اهم الطرق واكثرها شيوعا ، ويستخدم لهذا الغرض مجموعة من الانزيمات تسمى Exopeptidase ولتحديد الطرف الكاربوكسيلي تستخدم الانزيمات من ضمن هذا الصنف وتسمى Carboxy peptidase ، والتي تعمل على كسر الاصرة البيبتيدية عند الطرف الكاربوكسيلي وتحرير الحامض الاميني الذي يمثل الطرف الكاربوكسيلي ، وتضم هذه الانزيمات ثلاث انواع منها :

Carboxy peptidase A : يعمل هذا الانزيم على تحرير كافة الاحماض الامينية بالتعاقب من الطرف الكاربوكسيلي الحر ماعدا الاحماض الامينية التالية (Arg , Lys , Pro) .

Carboxy peptidase B : يعمل هذا الانزيم على تحرير الاحماض الامينية (Arg , Lys) فقط من الطرف الكاربوكسيلي الحر للسلسلة البيبتيدية .

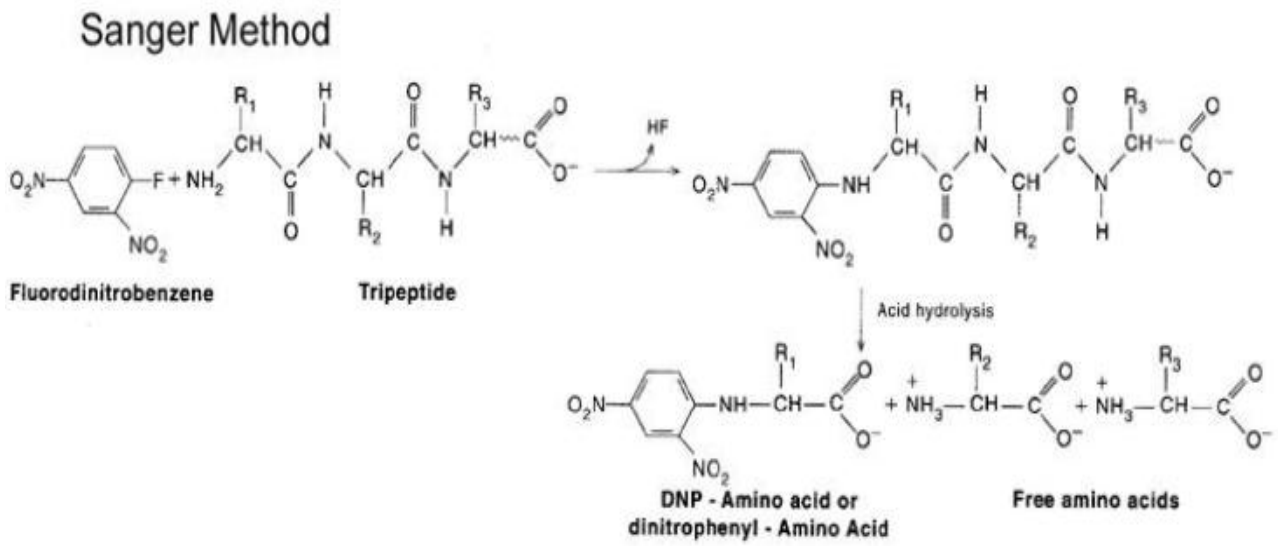
Carboxy peptidase C : يعمل هذا الانزيم على تحرير الحامض الاميني (Pro) فقط من الطرف الكاربوكسيلي الحر للسلسلة البيبتيدية .

B : تحديد الحامض الاميني في الطرف الاميني : يمكن معرفة الحامض الاميني الذي يمثل الطرف الاميني الحر وذلك من خلال الطرق التالية :

١- **الطرق الكيميائية Chemical method** : هناك عدد من الكواشف التي تستخدم لتحديد الحامض الاميني في الطرف الاميني منها ما يلي :

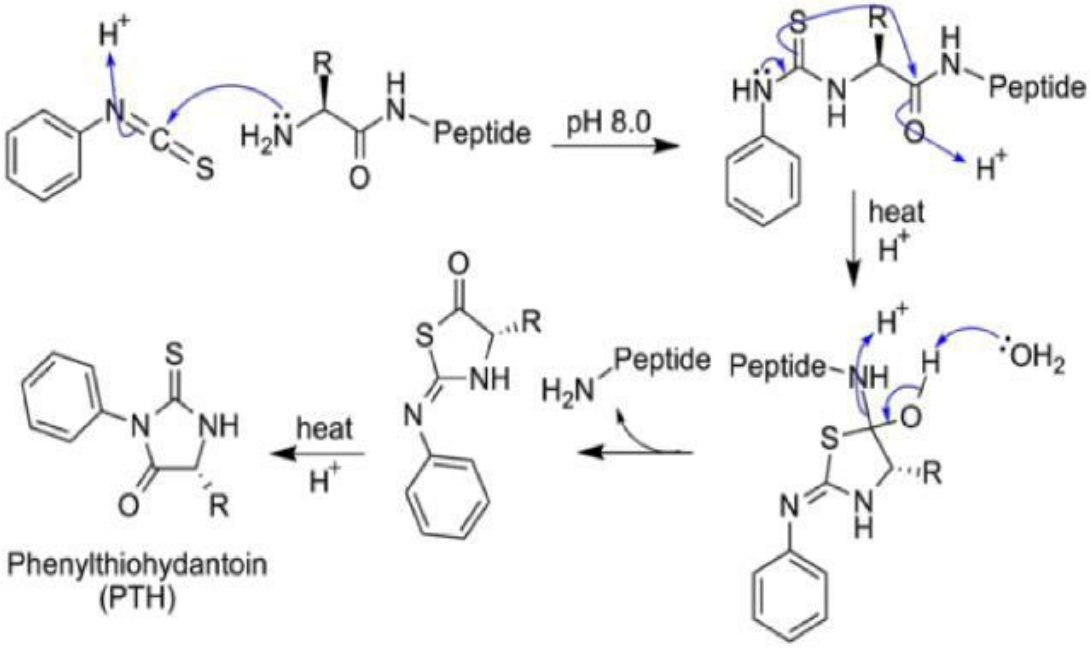
I: كاشف سانجر Sanger Reagent(DNFB) :

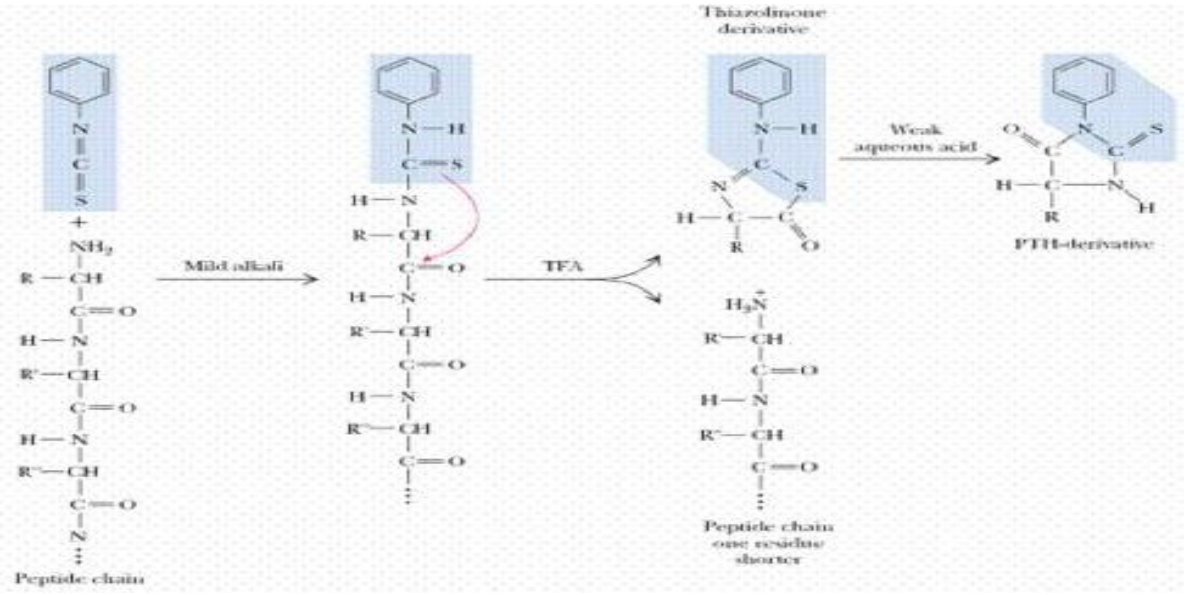
في هذه الطريقة يتم معاملة السلسلة البيبتيدية مع كاشف سانجر (2,4-Dinitro Fluro Benzen) في محيط قاعدي ضعيف مما يكون مشتق (2,4-dinitro phenyl amino acid) للحامض الاميني الطرفي ، وبعد ذلك يجرى تحلل للسلسلة البيبتيدية بالوسط الحامضي ، فتتحرر الحوامض الامينية ، الا انه الحامض الاميني المكون للمشتق يكون على شكل راسب بلوري اصفر ، وبذلك يمكن معرفة الحامض الاميني للطرف الاميني . وكما مبين بالتفاعل التالي :



II: كاشف ادمان Edman Reagent :

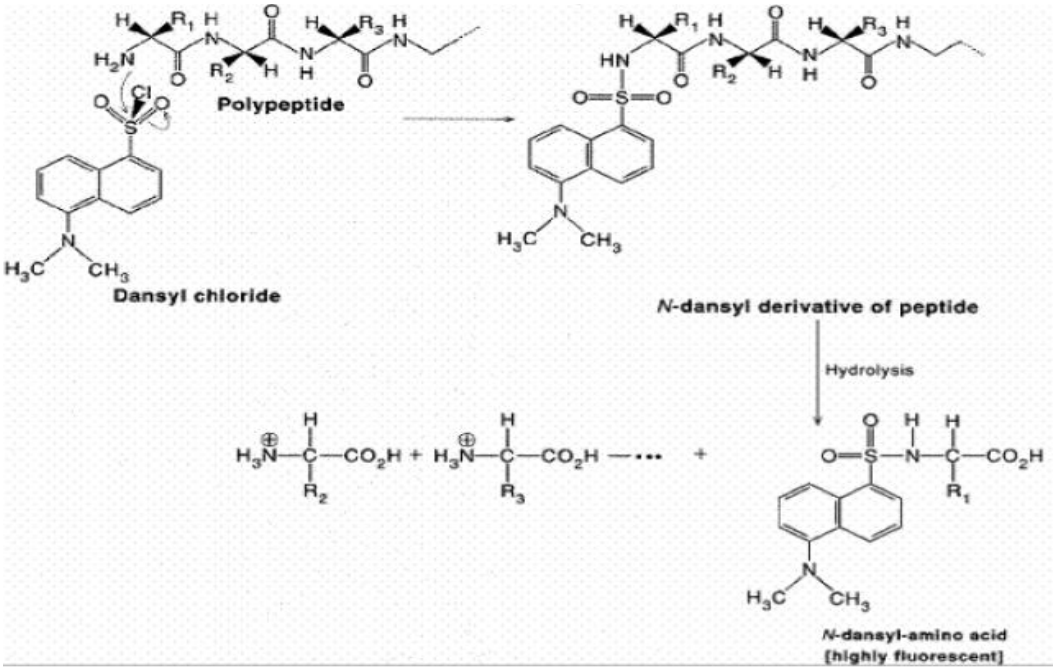
في هذه الطريقة يستخدم الكاشف Phenyl isothiocynate الذي يتفاعل مع مجموعة الامين الحرة للحامض الاميني الطرفي في محيط قاعدي ضعيف لينتج المشتق phenyl thiocarbomyl peptide ، وعند معاملته مع حامض الخليك الثلجي (Tri-fluoro acetic acid) مع التسخين نحصل على المركب phenyl thiohydantion للحامض الاميني للطرف الاميني وسلسلة ببتيدية تقل بحامض اميني واحد عن السلسلة الاصلية ، يمكن ان يستمر هذا التفاعل مع السلسلة المتكونة في كل مرة وتحرير الحامض الاميني الطرفي ولحد (١٠) حوامض امينية .





III: كلوريد الدنسايل Dansyl chloride :

تتلخص هذه الطريقة بمعاملة السلسة البيبتيدية مع كلوريد الدنسايل (1-Dimethyl amino naphthalene-5-sulfonyl chloride) في محيط قاعدي ضعيف فيعطي مشتق البيبتيد مع هذا الكاشف، بعد ذلك يجرى تحلل حامضي للبيبتيد باستخدام HCL فيحرر كل الاحماض الامينية بصورة حرة ، عدا الحامض الاميني الطرفي الذي يكون مرتبط مع مشتق كلوريد الدنسايل ، والذي يظهر على شكل بقعة صفراء عند فحصه بالاشعة فوق البنفسجية بعد فصله بتقنية كروموتوغرافيا الورق Paper Chromatography .



٢- **الطرق الانزيمية Enzymatic method** : في هذه الطريقة يمكن استخدام انزيمات exopeptidase من نوع amino peptidase ، ومن اهم هذه الانزيمات Lucien amino peptidase والذي يعمل على تحرير الحامض الاميني من الطرف الاميني ويكون عمله مشابه لكاشف ادمان ، اذ يمكن التعرف على الحوامض الامينية في الطرف الاميني ولغاية (١٥) حامض اميني ، ويكون التفاعل اسرع بوجود الحامض الاميني Leu عند الطرف الاميني ، الا انه هذا الانزيم لايعمل اذا كان البرولين Pro موجود في الطرف الاميني .