الفصل الرابع

الدهون (الليبيدات Lipids)

الليبيدات هي الصنف الآخر للجزيئات الحياتية الكبيرة، وتؤلف الليبيدات حوالي ٥% من المواد العضوية الداخلة في تركيب الخلية الحية. وهناك حوالي ٤٠-٥٠ نوعاً من الجزيئات الليبيدية في الخلية. وتكون خلايا الدماغ والانسجة العصبية خاصة غنية بمركبات الليبيد المعقدة.

والليبيدات هي مركبات ذات طبيعة دهنية تذوب في المذيبات غير المستقطبة مثل الايثر والبنزين . وقد تحتوى بعض الليبيدات على مجموعات متأينة مثل الفوسفات او كولين غير ان الجزء الأكبر من جزىء الليبيد يكون غير مستقطبة.

اما من الناحية التركيبية، فالليبيدات تضم مجموعة مختلفة من المركبات. وتتكون وحدات البناء الاساسية لليبيدات غالباً من الاحماض الدهنية، كليسيرول، سفينجوسين ، ومركبات ستيرول .

وظائف الدهون

تعد الدهون مصدرا كبيرا للطاقة في الحيوانات وكذلك في البذور الحاوية على نسبة عالية من الدهون. فعند اكسدة ١ غم من الدهن تتولد طاقة تقدر بـ ٩ كيلو سعرة بينما تتولد ٥.٥ كيلو سعرة من اكسدة ١ غم من البروتينات ، في حين ينتج ٤ كيلو سعرة من اكسدة ١ غم من الكاربوهيدرات.

وتخزن الدهون في الانسجة الدهنية كخزين للطاقة عند الحاجة. وتعمل الدهون البروتينية lipoproteines كعناصر تركيبية لاغشية الخلايا وعضياتها، وكذلك في نقل الدهون في الدم.

كما تعمل الدهون كمواد واقية على سطح الكثير من الكائنات الحية.

وتعمل الدهون كعازل حراري في الحيوان والانسان.

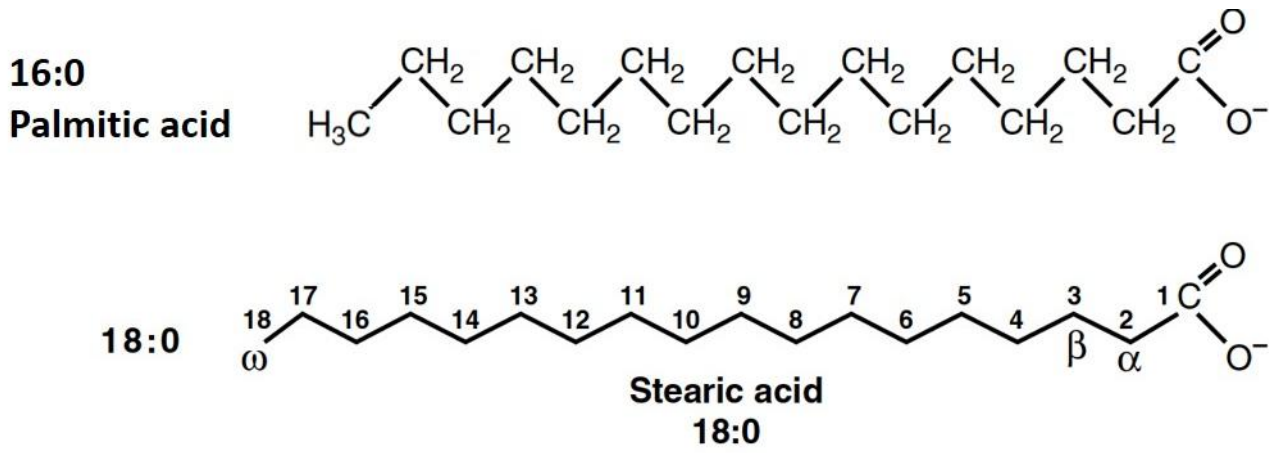
كما تدخل الدهون في تركيب الانسجة العصبية بنسبة عالية. وتعمل الدهون كعازل كهربائي.

كما تعمل الدهون كمواد اولية لبعض الفيتامينات والهرمونات واحماض الصفراء.

Fatty acids الاحماض الدهنية

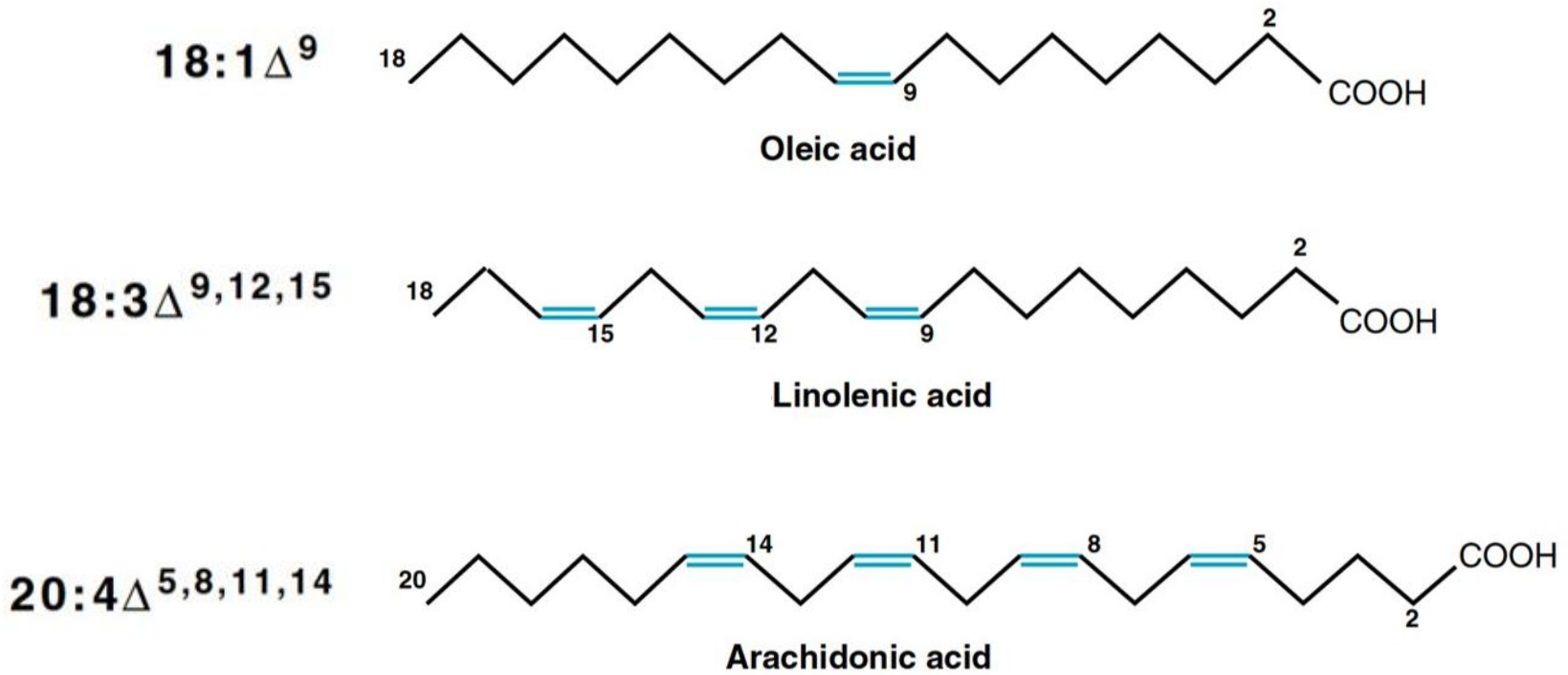
تعد الاحماض الدهنية مشتقات لليبيد وذلك لأنها تدخل في تكوين الانواع المختلفة لليبيدات وتحتوي جزيئات الاحماض الدهنية الموجودة في الطبيعة على عدد زوجي من ذرات الكاربون وهي عادة احماض كاربوكسيلية ذات سلسلة هيدروكربونية مستقيمة مشبعة او غير مشبعة

يعد حامض بالمتيك Palmitic acid (C16) والستريك Stearic acid (C18) من اهم الاحماض الدهنية المشبعة وذلك لكونها يدخلان في تركيب اغلب الدهون الحيوانية والنباتية .



اما الاحماض الدهنية غير المشبعة فهي المكونات المميزة للزيوت . ويعد حامض اوليك Oleic acid (C18) الذي يحوي آصرة مزدوجة واحدة من الأنواع الشائعة. كما توجد احماض دهنية متعددة الأواصر المزدوجة وهذه تشمل حامض لينوليك Linoleic acid (C18) وحامض لينولينيك Linolenic acid (C18) وكذلك حامض اراكيدونيك Arachidonic acid . وهذه تحوي اثنين ثلاثة واربعة من الأواصر المزدوجة على التالي . وهذه الاحماض الدهنية الثلاثة تعتبر اساسية حيث ان الجسم لا يستطيع تكوينها ويجب ان تتوفر في الغذاء

تكون الاواصر المزدوجة لجميع الاحماض الدهنية بشكل cis. وتشير التحليلات بواسطة اشعة x الى ان الشكل التركيبي لها يكون متعرجا.

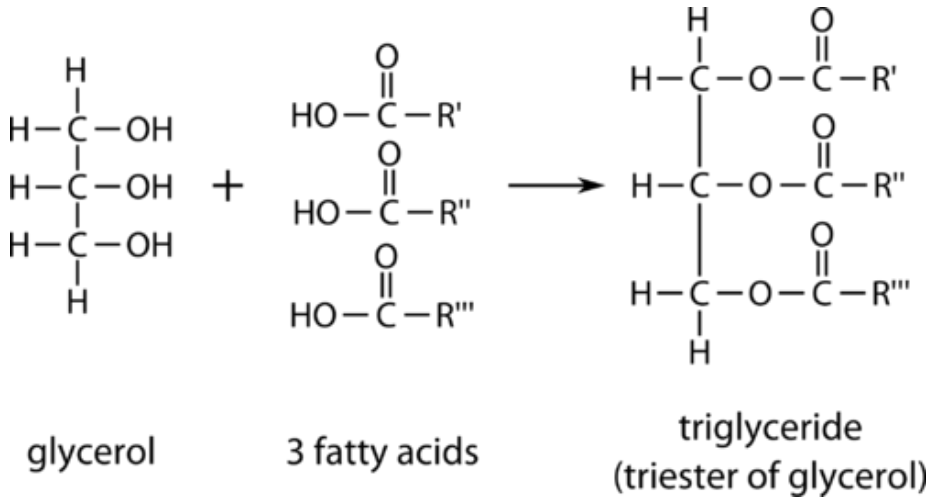


وتكون الاحماض الدهنية المتعددة الأواصر المزدوجة مثل حامض اراكيدونك مركبات حياتية وسطية للاحماض الدهنية الحلقية التي تعرف بمركبات بروستا كلاندين prostaglandins والتي تعمل كمنظمات او كهورمونات موضعية لعمليا ايضية في كثير من الانسجة

اصناف الدهون

الدهون المتعادلة

تعد الدهون المتعادلة ابسط انواع الليبيدات. وهي مركبات استر لكليسيرول واحماض دهنية وتدعى ايضاً بمركبات ثلاثي أسايل كليسيرول triacylglycerols او ثلاثي كليسيريد triglycerides وذلك عندما تكون مجاميع OH الثلاثة في الكليسيرول متأسترة مع ثلاثة احماض دهنية.

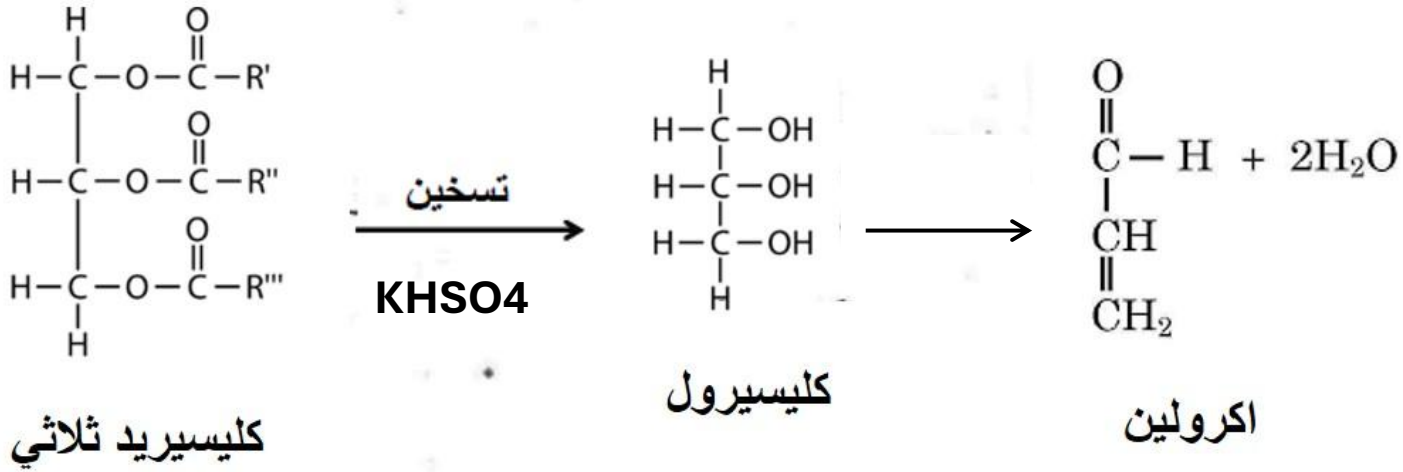


وتشمل الدهون المتعادلة على الشحوم والزيوت والتي تتواجد مخزونة في الحيوان داخل الأنسجة الدهنية adipose tissue والنبات ، وعلى الاغلب فان الشحوم تكون صلبة في درجة حرارة الغرفة وذلك بسبب احتوائها على نسبة عالية من الاحماض الدهنية المشبعة . بينما تكون الزيوت بشكل سائل وذلك بسبب احتوائها على نسبة عالية من الاحماض الدهنية غير المشبعة .

التفاعلات المهمة للدهون

كشف اكرولين Acrolin test

يتفاعل الدهن المتعادل بسبب احتوائه على الكليسيرول مع KHSO4 ليعطي المركب اكرولين والذي له رائحة مخدشة مميزة



زناخة الدهون (الاكسدة الفوقية)

ينشأ حمث اوتزنخ الدهن (التأكسد التلقائي الذاتي للدهن) بوجود الاوكسجين عندما يعرض الدهن للهواء وفي درجة حرارة الغرفة ، مما يؤدي الى تكون طعم ورائحة غير مقبولة للدهن. وهناك طريقتان مختلفان الحمث (زنخ) الدهن وهما **طريقة التحلل** و**طريقة الاكسدة**.

فقد **تتحلل** الدهون نتيجة عمل انزيمات او كائنات مجهرية لتنتج احماض دهنية ذات سلاسل هيدروكربونية قصيرة (مثل حامض بيوتريك) التي لها رائحة كريهة كما هو الحال في حمث الزبدة.

وقد **تتأكسد** الأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في الدهون حيث تتحول الأواصر المزدوجة الى بيروكسيد وبالتالي الى مركبات الديهايد اوكيتون او احماض طيارة لها روائح كريهة. ويساعد وجود الحرارة، الضوء وكذلك الرطوبة، على التعجيل من عملية الحمث بالاكسدة

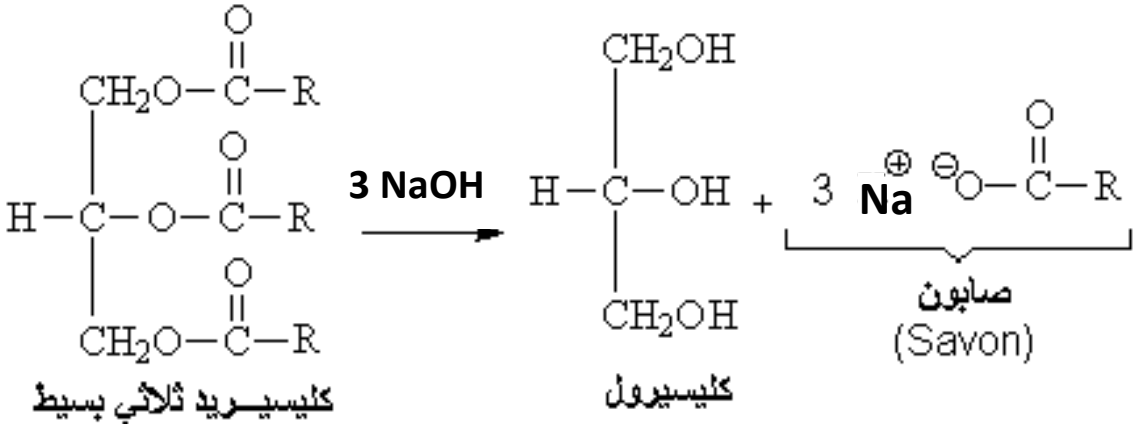
إن التأكسد الذاتي الاكسدة الفوقية (peroxidation) للدهون تؤدي الى تلف الانسجة داخل الجسم. وان التأثيرات الضارة تبتدأ initate بتكون الجذور الحرة مثل RO· OH· ROO· خلال تكون البيروكسيدات من الاحماض الدهنية غير المشبعة. إن الأكسدة الفوقية للدهون هو تفاعل متواصل chain reaction ينتج الجذور الحرة اعلاه بصورة مستمرة. وهذه الجذور تحث بدورها عملية الاكسدة الفوقية بشكل أبعد .

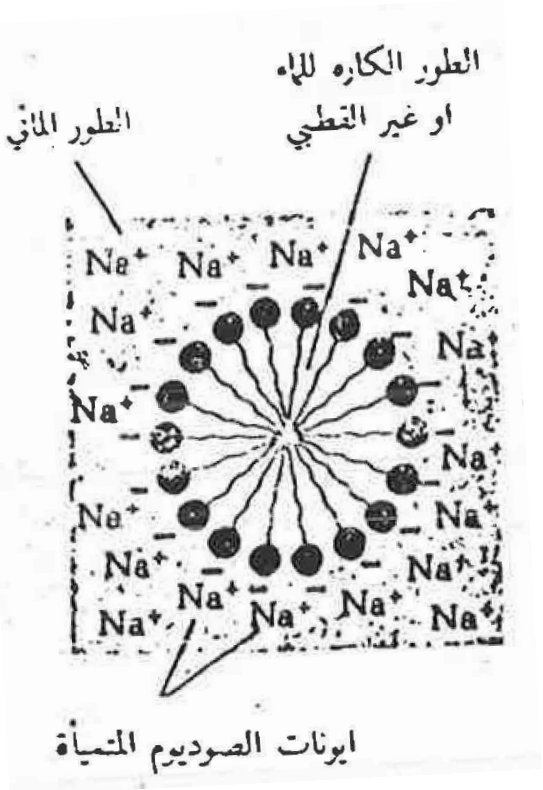
وقد تضاف للدهون مواد طبيعية لمنع هذا التأكسد مثل فيتامين E (α-توكوفيرول) الذي يعمل في اوساط دهنية، وهو يحمي الاغشية الخلوية خاصة من هذا التأكسد ، وفيتامين C الذي يعمل في الوسط المائي ، وهو يخمد الجذور الحرة المتكونة في هذه الاكسدة.

وقد تسبب زناخة الدهون مرض السرطان والتهابات مختلفة والشيخوخة.

Saponification التصبن

تتحلل الدهون بواسطة القواعد الى كليسيرول واملاح الحامض الدهني، وتدعى هذه الاملاح بالصابون.





ان املاح الحامض الدهني هذه لها صفات الليبيدات المستقطبة حيث ان هذه الجزيئات المستقطبة. تكون في الماء تجمعات تسمى مذيلات او ميسيلس micelles. والمذيلات هذه عبارة عن دقائق بحجم الدقائق الغروية تكون فيها المجاميع المستقطبة للجزيئات متجهة الى السطح (الخارج) في حين تكون السلاسل الهيدروكاربونية المجاميع غير المستقطبة متجهة نحو الداخل. وتكون هذه الدقائق متباعدة عن بعض بسبب تناقر الشحنات السالبة الموجودة على سطح كل من المذيلات.

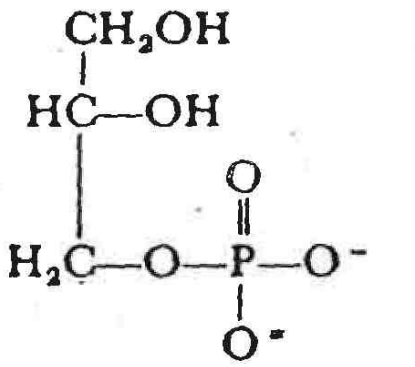
في الانسان تتحلل الدهون المتعادلة الى كليسيرول واحماض دهنية حرة بفعل انزيمات ليبيس Lipase. وفي حالة التهاب البنكرياس فان الليبيس المتحرر من البنكرياس إلى مجرى الدم يحلل الكليسيريدات الثلاثية الى احماض دهنية حرة وهذه تقترن بأيونات الكالسيوم فينشأ عن هذا املاح الكالسيوم للاحماض الدهنية وتكون هذه عديمة الذوبان وليس بالامكان امتصاصها .

عدد التصين saponification no يشير الى عدد ملغرامات KOH التي تستلزم لتصبن غم واحد من الدهن ويستفاد من ايجاد عدد التصين في التقدير النوعي والكمي لحامض دهني معين. وكذلك في تقدير الوزن الجزيئي التقريبي للدهن الذي يحوي ذلك الحامض الدهني المعين. وتستخدم الآن تقنيات كروماتوكرافيا الغاز السائل وكروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة للاغراض التحليلية لانواع الليبيدات كافة

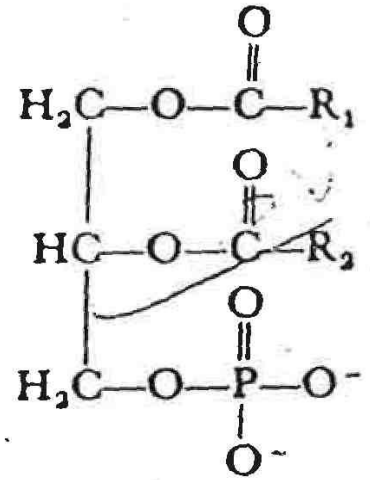
الكليسيريدات الفوسفاتية (اللبيدات الفوسفاتية) Phosphoglycerides

توجد الكليسيريدات الفوسفاتية في جميع الخلايا الحيوانية والنباتية . تدخل الدهون الفوسفانية عموماً في تركيب الاغشية الخلوية وفي تركيب البروتين الدهني لبلازما الدم. وهي مركبات استرفوسفات لكليسيريدات ثنائية.

يعد مركب كليسيرول -٣- فوسفات (حامض فوسفاتيديك) الوحدة التركيبية الاساسية للكليسيريدات المفسفرة.



كليسيرول - 3 فوسفات

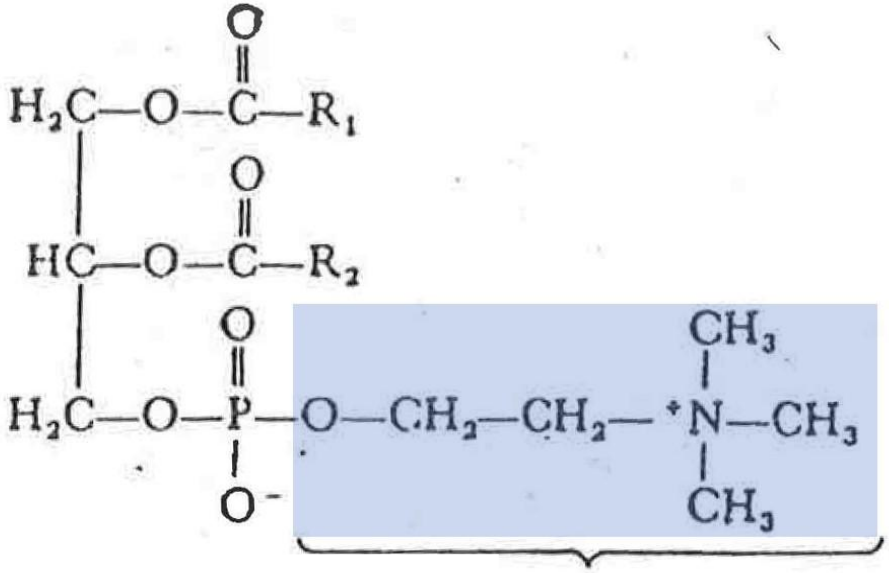


حامض فوسفاتيديك

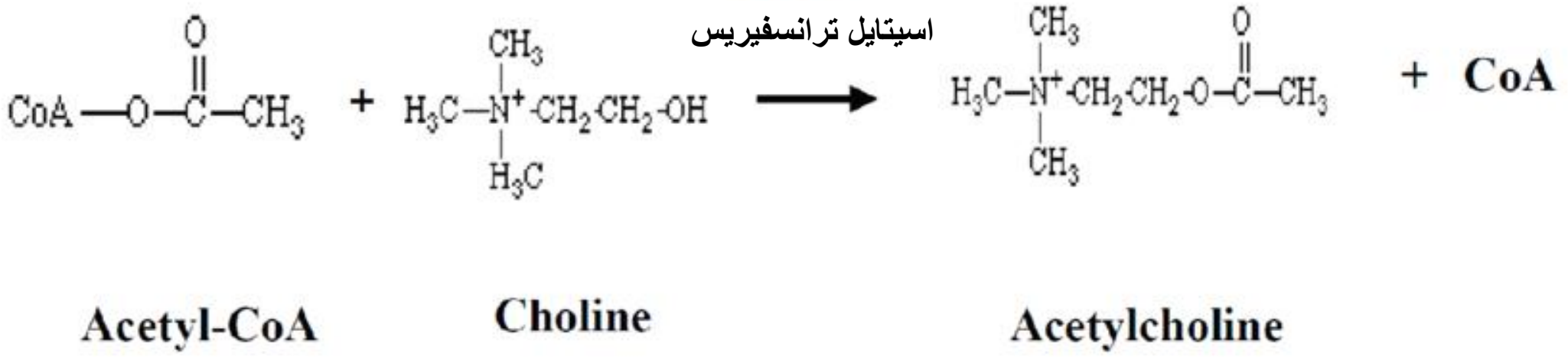
مركبات فوسفاتيدايل كولين (ليسيثين) Phosphatidyl cholines (Lecithins)

عند تأستر الكولين choline او ثلاثي مثيل ايثانول امين trimethyl ethanol amine مع طرف حامض الفوسفوريك للحامض فوسفاتيديك تنتج مركبات فوسفاتيدايل كولين phosphatidyl cholines وتدعى ايضا بمركبات ليسيثين Lecithins .

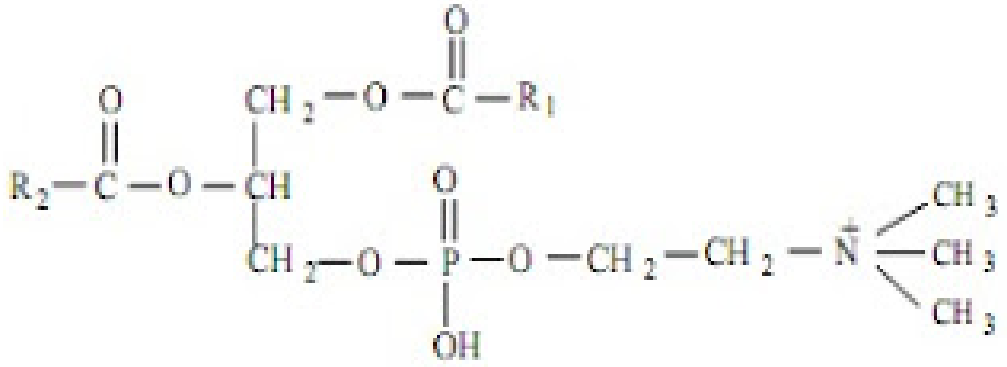
تلعب مركبات الليسيثين دوراً اساسياً في تقليل التوتر (الشد) السطحي لخلايا الحويصلات الهوائية في الرئة فهي تعمل كطبقة سطحية، وبدونها يحدث ضيق في عملية التنفس



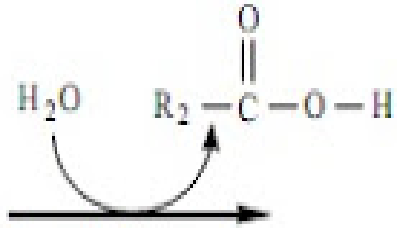
تكون مركبات الليسثين مكونات للدماغ والانسجة العصبية. ويعد الفوسفاتيدايل كولين مركبا لخزن الكولين في الدماغ، حيث يتحول الكولين بفعل انزيم اسيتايل ترانسفيريس الى المركب اسيتايل كولين الناقل للارسالات العصبية.



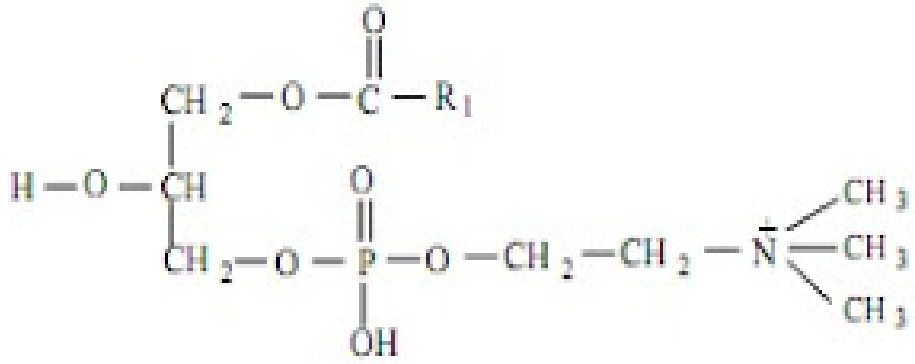
تحتوي سموم بعض الافاعي والحشرات السامة على انزيم phospholipase A2 والذي يعمل على تحلل الليسيثين (ازاحة حامض الأوليك من ذرة الكربون الوسطى) لينتج المركب لايسوليسيثين lysolecithin الذي يؤدي الى تحلل كريات الدم الحمر وذلك عند تعرض الحيوان للدغ او لسع هذه الكائنات



ليسيثين



فوسفولاييس A2

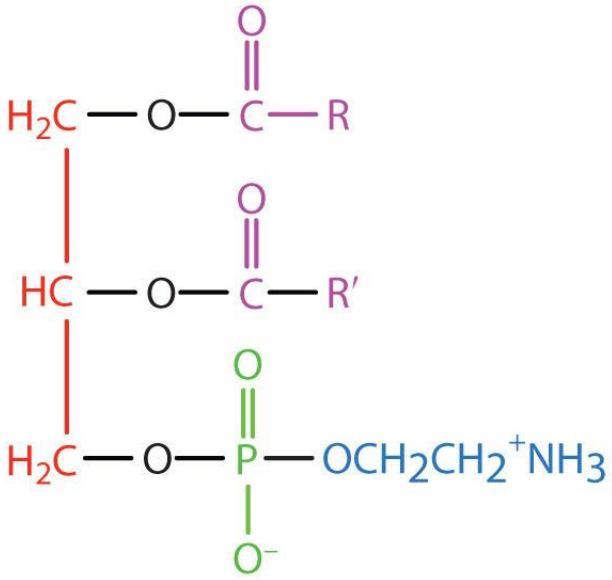


لايسوليستين

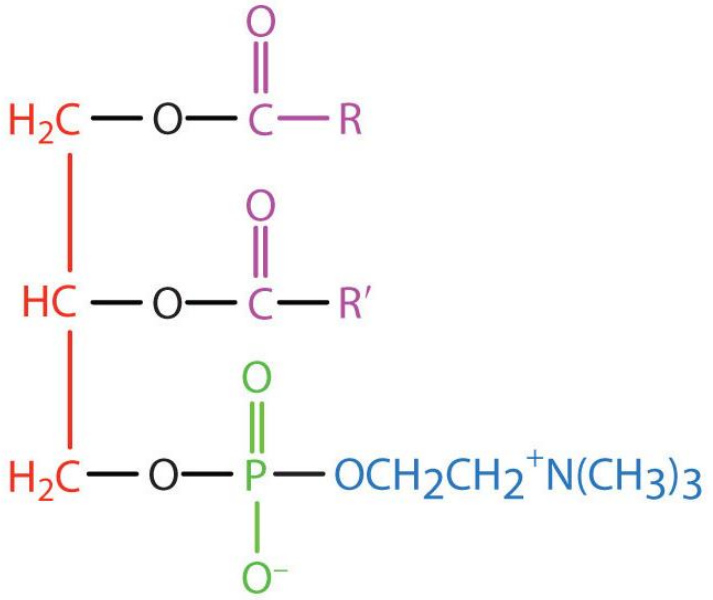
مركبات فوسفاتيدايل ايثانول امين (سيفالين) Phosphatidyl ethanolamine (Cephalin)

توجد مركبات السيفالين في انسجة الدماغ، وتشترك مركبات السيفالين في عملية تخثر الدم .

وتحتوي مركبات الكليسيريدات الفوسفاتيدية على مجاميع مستقطبة تجعلها قابلة للذوبان في الماء في حين ان احتواءها على الاحماض الدهنية يجعلها تذوب في المذيبات غير المستقطبة. وبهذه الخاصية تستطيع هذه المركبات ان تعمل على تثبيت اللبيدات مع مجموعات البروتين والكربوهيدرات المستقطبة في الاغشية الخلوية



Phosphatidylethanolamine
(cephalin)

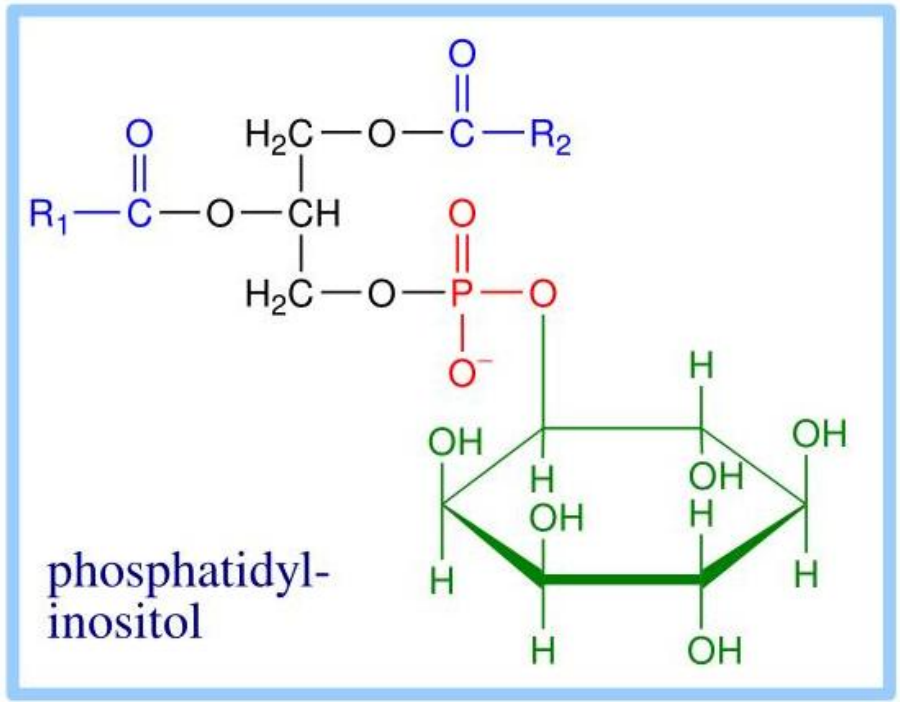


Phosphatidycholine
(lecithin)

فوسفاتيدايل اينوسيتول Phophatidyl inositol

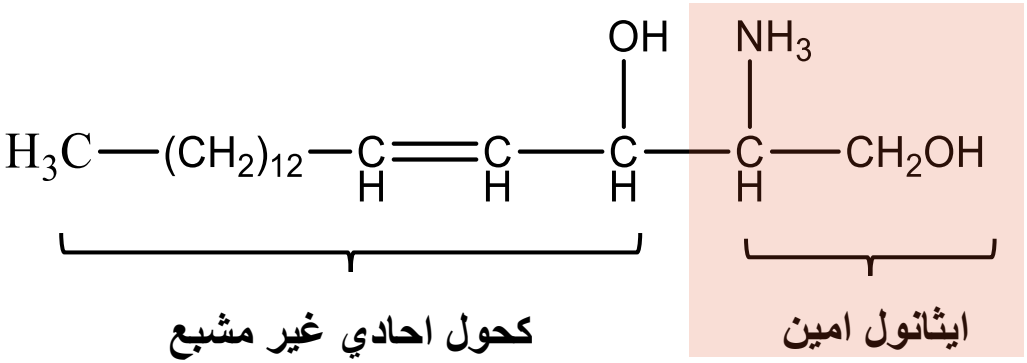
يوجد الفوسفاتيدايل اينوسيتول في معظم الانسجة الحيوانية وخاصة في انسجة الدماغ والانسجة العصبية . تعمل مركبات فوسفاتيدال اينوسيتول كرسل كيمياوية ثانية second messenger التي تتوسط عمل الهورمونات (الرسل الكيمياوية الأولى).

- Inositol as a polar head group
- Has roles in cell signaling as well as a cell membrane component



٣. الليبيدات الاسفنجية

سميت بهذا الاسم لاحتوائها على المركب سفنجوسين او احد مشتقاته ، والسفنجوسين هو كحول غير مشبع مرتبط مع الايثانول امين

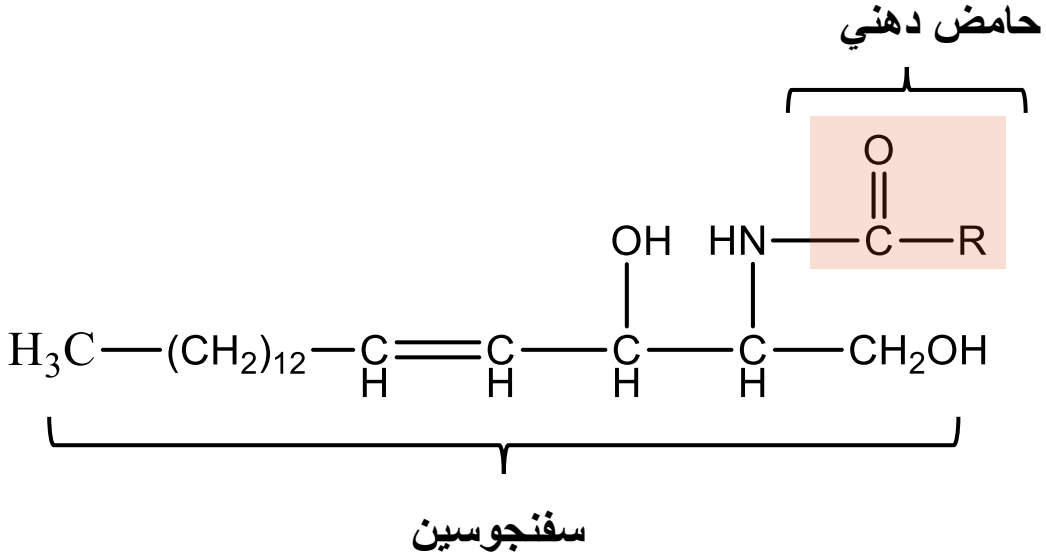


سفنجوسين

- مركبات سيراميد Ceramides

يعد من ابسط انواع الليبيدات الاسفنجية ويتالف من حامض دهني مرتبطا مع سفنجوسين

وفي الانسان يعمل السيراميد مركبا وسطيا في تكوين ليبيدات اسفنجية اخرى.

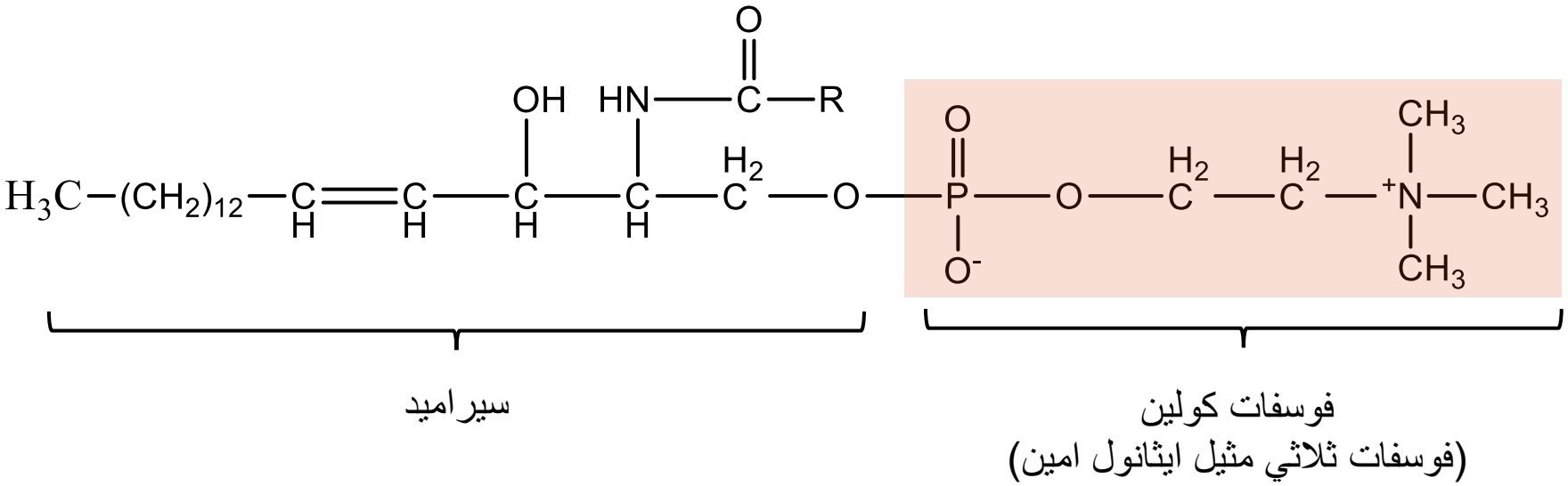


سيراميد

- مركبات سفينجومايلين

يتالف من ارتباط وحدة سيراميد مع فوسفات كولين (او فوسفات ثلاثي مثيل ايثانول امين).

وتعد مركبات سفنجومايلين مكونات مهمة لغلاف النخاعين (المايلين الذي يعد مادة عازلة للانسجة العصبية)



سفنجومايلين

تمتاز اللبيدات الفوسفاتية وكذلك اللبيدات الاسفنجية بامتلاكها شحنات كهربائية مختلفة حيث ان كلا من القواعد النتروجينية مثل (ايثانول امين كولين، سيرين) وكذلك مجموعة حامض الفوسفوريك ومجموعة COOH الموجودة في تركيب هذه الليبيدات تكون متأينة على مدى واسع من الـ PH وبضمنه الـ PH الفسيولوجية للجسم.

إن الجزء من تركيب الفوسفولبيد الذي يحتوي على القاعدة النتروجينية ومجموعة الفوسفات ، يكون قطبيا ويسمى الرأس القطبي polar head ، ويكون محباً للماء hydrophilic . بينما ذلك الجزء من تركيب الفوسفولبيد والذي يحوي على السلاسل الهايدروكاربونية الطويلة ، يكون لا قطبيا ويسمى الذيل (الطرف) اللاقطبي nonpolar tail ، ويكون كارهاً للماء hydrophobic ولهذا تمتاز الليبيدات الفوسفاتية بامتلاكها خاصية قطبية - لا قطبية مزدوجة (أمفيباثيك amphibathic) .

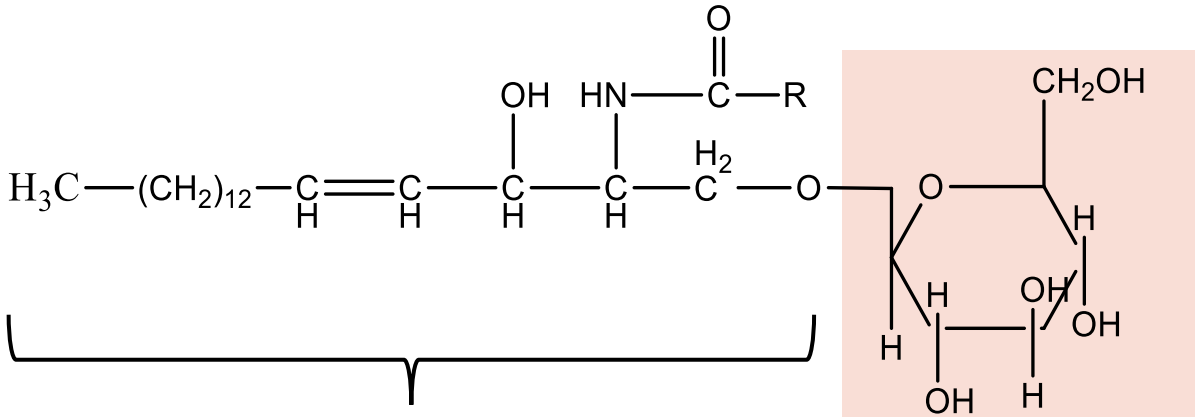
إن الليبيدات عموماً لا تذوب في المحاليل المائية غيران الليبيدات الفوسفاتية تتمكن من التداخل interact (مع الماء المحاليل المائية) مكونة المذيلات micelles بسبب امتلاكها الخاصية الامفيباثيكية .

٤. الليبيدات السكرية Glycolipids

تحتوي الدهون السكرية بصورة مميزة على مجموعة سكرية ولكنها لا تحتوي على حامض فوسفوريك مثال عليها مركبات سيريبروسيد Cerebrosides وهي تتألف من سكر سداسي مثل ، الكلوكوز او الكالاكتوز مرتبطاً مع سيراميد.

وتعد مركبات سيربيروسيد من مكونات غلاف النخاعيين (ما يلين (myelin) الاساسية، بهذا فهو من المكونات الرئيسية للاغلفة الدماغية والنخاع الشوكي والخلايا العصبية . ونظراً لاحتواء سيربيروسيد على سفينجوسين لذا يمكن اعتباره من الدهون السكرية - الاسفنجية .

وتمتلك الليبيدات السكرية خواصاً قطبية - لاقطبية مزدوجة amphipathic بسبب احتوائها على المجموعة السكرية ذو الخواص القطبية وعلى السلاسل الهيدروكاربونية الطويلة ذو الخواص غير القطبية ، وبهذا فإنها تتمكن من التداخل مع الطور المائي مكونة المذيلات.

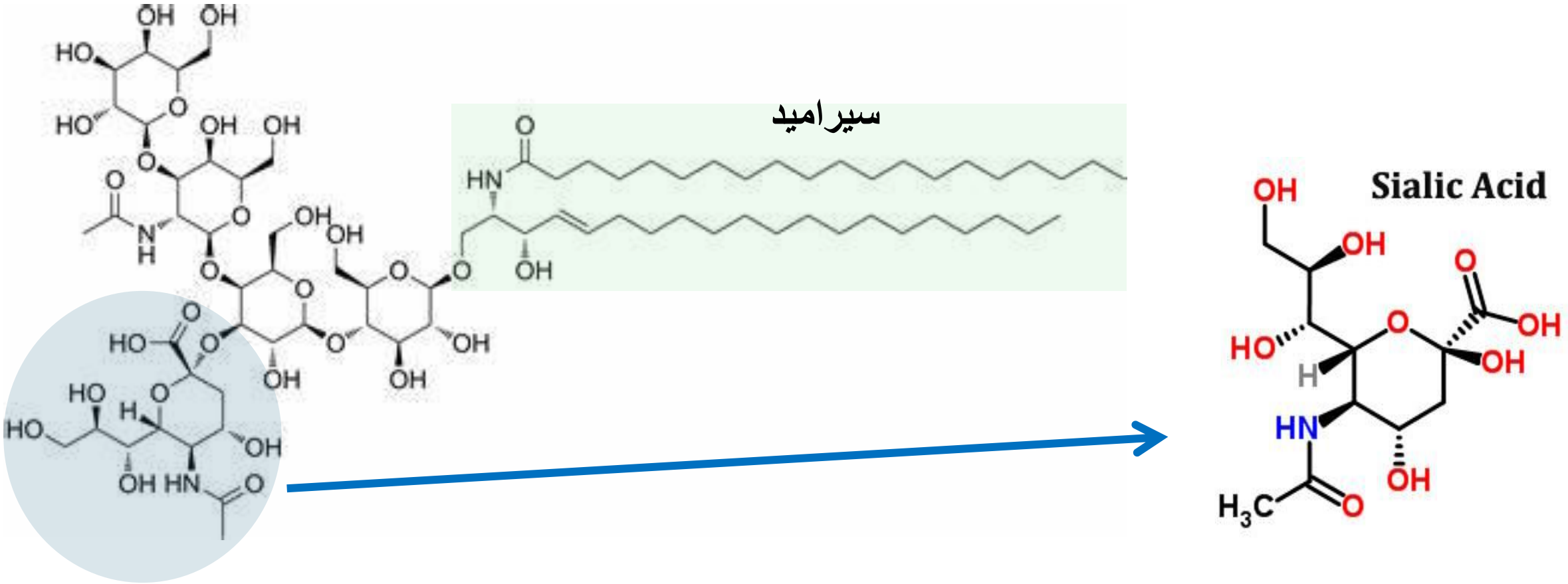


سيراميد (سفنجوسين + حامض دهني)

كلوكوز

سيريبروسيد

وهناك مجموعة اخرى من اللبيدات السكرية (الحامضية) وتدعى هذه بمركبات **جانكليوسيد Gangliosides** ، وهذه تختلف عن مركبات سيربروسيد في احتوائها على بضع وحدات من كل من **سكر سداسي وحامض سياليك Cialicacid** ، وهي موجودة في المادة الرمادية للدماغ. وبسبب تواجدها بكثرة في نهايات الاعصاب ، لذا فمن المعتقد ان تشارك في نقل النبضات العصبية عبر التشابك العصبي، وهي ايضاً من المكونات الرئيسة لأغلفة الالياف العصبية



٥. الدهون البروتينية

تتألف من اتحاد بعض الدهون مع البروتينات، ان الجزء الدهني المتحد بالبروتين هو ثلاثي اسيل الكليسرول ودهن فوسفاتي وكولستيرول حر (او المؤستر) بنسب معينة. توجد الدهون البروتينية في تركيب اغشية الخلايا وعضياتها. ومن اكثر الدهون البروتينية شيوعاً هي تلك الموجودة في بلازما دم اللبائن حيث تقوم بعملية نقل الدهون بسبب خواصها الأمفيياثيكية من الامعاء الدقيقة إلى الكبد ثم من الكبد الى الانسجة الدهنية adipose tissues والانسجة الأخرى .

ويمكن تصنيف الدهون البروتينية استناداً إلى كثافتها التي تمثل المحتوى الدهني الذي يتراوح نسبته بين ٣٠-٧٥% . حيث كلما زاد المحتوى الدهني قلت كثافة الدهن البروتيني .

٥. الدهون البروتينية

هناك اربعة انواع من الدهون البروتينية امكن عزلها وتشخيصها بوساطة تقنيات الطرد المركزي والهجرة الكهربائية :

١. البروتين الدهني عالي الكثافة High density lipoprotein (HDL) : وتقوم هذه الدهون بنقل الكوليستيرول والبروتينات الليبيدية الأخرى من الأنسجة المختلفة إلى الكبد

٢. البروتين الدهني منخفض الكثافة Low density lipoprotein (LDL): تعمل على نقل الكولستيرول من الكبد إلى الأنسجة الأخرى

٣. دهون بروتينية ذات كثافة واطئة جداً (Very low density lipoprotein (VLDL : وتنقل الدهون المتعادلة triglycerides المتكونة في الكبد من الكبدوالأمعاء إلى الأنسجة الأخرى

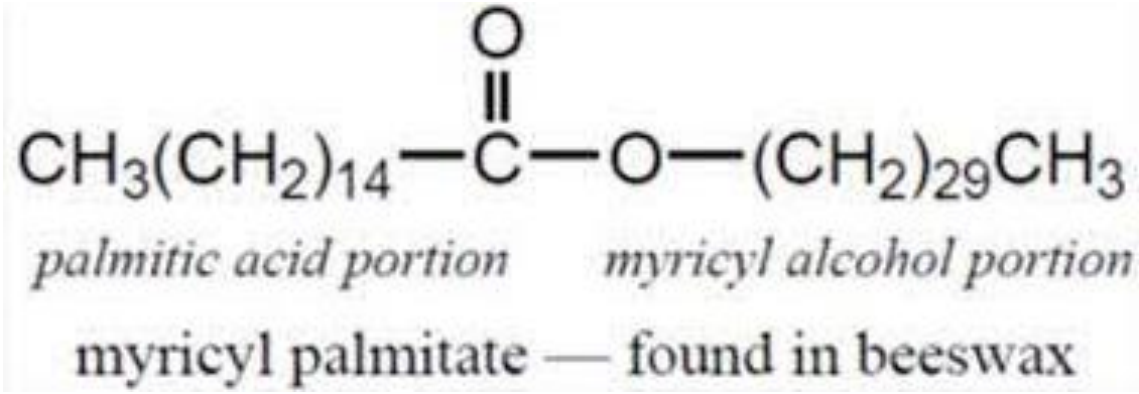
٤. الدقيات الكيلوسية ، كايلوما يكرون (الكايلوس المايكروني) Chylomicrons : وتنقل الدهون المتعادلة الخارجية والتي منشأها الغذاء من الامعاء الدقيقة الى الكبد والانسجة الأخرى.

٦. الشموع Waxes

تعد الشموع مركبات استر لاحماض دهنية وكحولات احادية الهيدروكسيل وذات سلسلة هيدروكاربونية طويلة. وتكون الشموع مركبات غير مستقطبة. ويعد المركب **ما يريسايل بالمتيت myricyl palmitate** احد المركبات الشمعية التي تدخل في تركيب الخلايا السداسية لعسل النحل.

والشموع موجودة في الطبيعة بشكل مزيج من اللبيدات تغطي سطح الجلد والفرو والريش واوراق النباتات.

المركب **لانولين Lanolin** هو المادة الشمعية التي تغطي شعيرات الصوف ويستعمل له حالياً في تركيب بعض الدهانات وهو مزيج مركبات استر لاحماض دهنية وكحولات ستيرول.

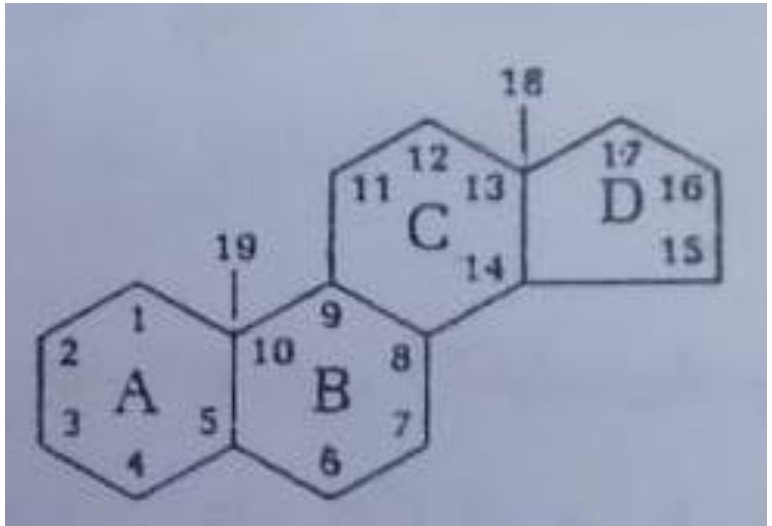


٧. مركبات الستيرويد

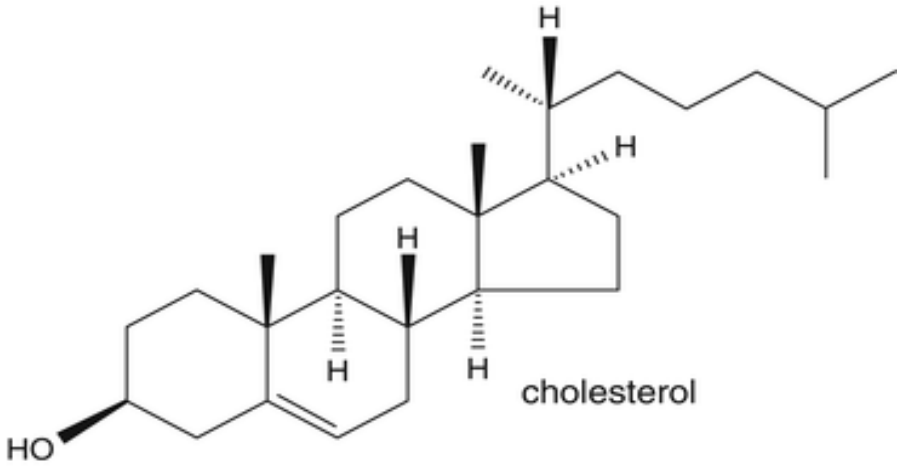
تعتبر مركبات الستيرويد steroids من الدهون المشتقة. تشتمل مركبات الستيرويد على الهورمونات الستيرويدية ومركبات الستيرول وكذلك املاح الصفراء Bile Salts .

ومركبات الستيرويد من اللبيدات غير القابلة للتصين، وتعد مشتقات لمركبات كحول حلقية. وتتألف النواة الاساسية لهذه المركبات من مجموعة حلقات هيدروكاربونية مختزلة تدعى بنواة الستيرويد

مركبات الستيرويد التي تملك ٨-١٠ ذرات كاربون كسلسلة جانبية في الموقع ١٧ وتملك مجموعة هيدروكسيل في الموقع ٣ ، كما تملك مجموعتي مثيل عند المواقع الزاوية ١٣ و ١٠ ، تدعى بمجموعة مركبات الستيرول Sterols .



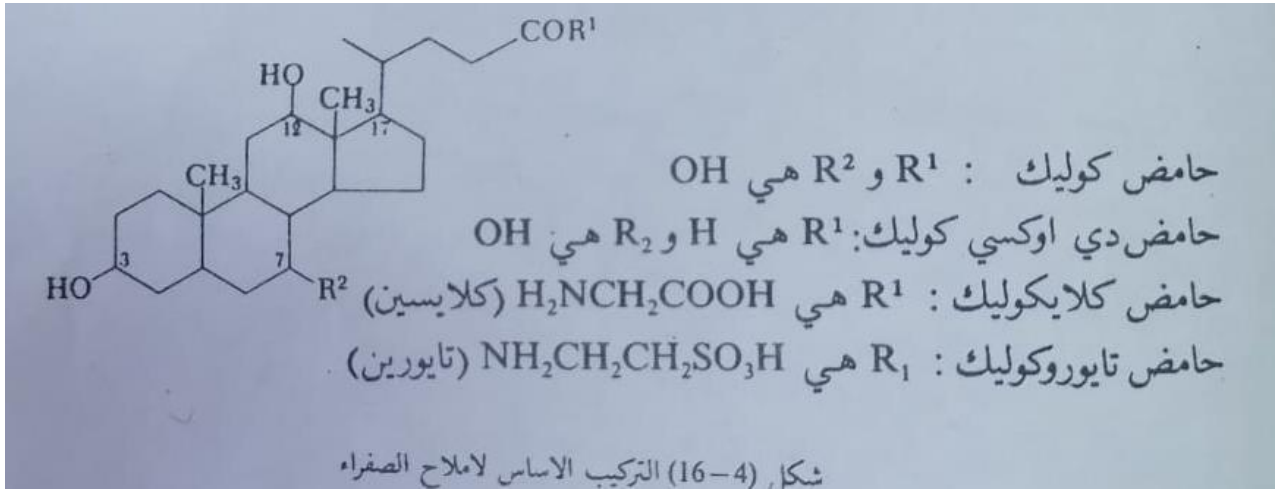
والكوليستيرول يعد من انواع الستيرول الشائعة الوجود في الحيوان . وهو المركب الوسطي في تكوين جميع الهورمونات الستيرويدية واملاح الصفراء وفيتامين D ويعتبر من المكونات الرئيسة لكل من غشاء البلازما والبروتينات الدهنية في البلازما، وهو كذلك موجود بتركيز عال في الدماغ والكوليستيرول لا يتواجد في الدهون النباتية.



يتفاعل الكوليستيرول مع خليك لاماني acetic anhydride ومع حامض الكبريتيك في محلول الكوروفورم لينتج لونا اخضر. ويستعمل هذا التفاعل طريقة للكشف عن الكوليستيرول وتقديره كمياً ايضاً ويدعى بتفاعل ليبرمان – بوركارد

كما أن اللانوستيرول lanosterol هو أحد الستيرولات المهمة الأخرى ويوجد في المادة الدهنية المغلفة للصوف ويعتبر أحد المكونات الوسطية المهمة في تخليق الكوليستيرول.

اما الاملاح الصفراء Bile salts فهي مواد استحلاب طبيعة موجودة في الصفراء (المرة). وتتكون املاح الصفراء في الكبد وتخزن في حويصلة الصفراء (المرارة) حيث تتحرر على دفعات لتساعد في عمليات هظم وامتصاص الدهون. وتحاليل أملاح الصفراء ذو PH قاعدية. ومن اهم املاح الصفراء تلك التي تشتمل على حامضي كوليك ودي اوكسي كوليك cholic acid and deoxycholic acid، اللذان يقترنان بالمركب كلايسين glycine او تايورين taurine بواسطة أصرة أميد ليكون ا أملاح الصفراء . مثل صوديوم كلايكوكوليت Sodium glycocholate او صوديوم تايوروكوليت Sodium taurocholate

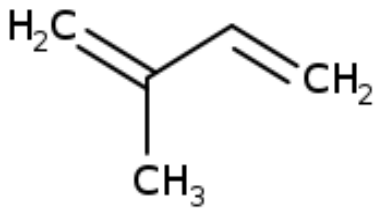


شكل (4–16) التركيب الاساس لاملاح الصفراء

إن املاح الصفراء من الدهون الامفيباثيكية amphipathic ، حيث تمتلك خواص مستقطبة - غيرمستقطبة مزدوجة ، ولهذا تستطيع أملاح الصفراء التداخل مع الطور المائي وتكوين المستحلبات .

٨. مركبات التيربين

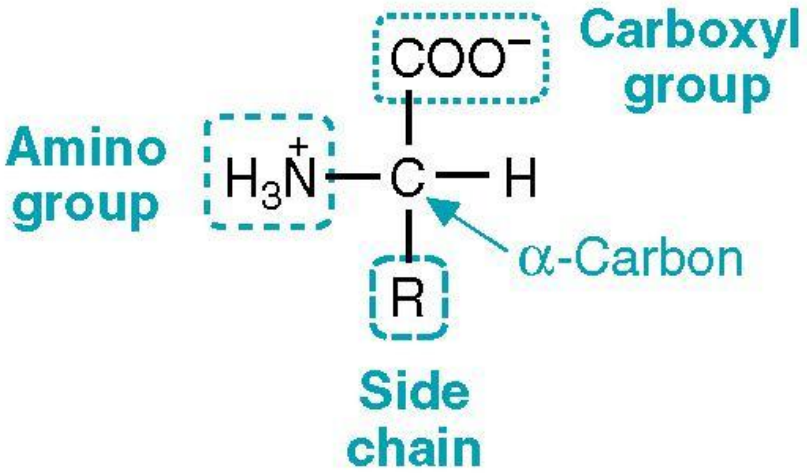
تعد مركبات التيربين مشتقات البوليميرات مكونة من وحدات ايزوبرين Isoprene المكثفة. وهي لبيدات غير قابلة للتصين.



وتشمل مركبات التيربين على السكوالين squalene وجيرانويل geranoil وفارنيسول farmesol ، التي تعد مركبات وسطية لتكوين الكوليستيرول (شكل (١٨٤). كما تشمل ايضاً على المركب β-كاروتين B- carotene الذي بعد مركبا وسطياً لفيتامين A (الريتينول retinol).

الفصل الخامس

الأحماض الأمينية، الببتيدات، والبروتينات هي جزيئات حيوية أساسية تلعب أدواراً مهمة في وظائف الجسم المختلفة، بدءًا من البناء العضلي إلى العمليات الحيوية المعقدة.



وغالباً ما يمثل التركيب الكيمياوي للحامض الاميني بشكل غير متأين لغرض التأكيد على مجموعتي الأمين والكربوكسيل. غير ان الاحماض الامينية موجودة بشكل غالب بصورة متأينة في سوائل الجسم الحي وعند رقم هيدروجيني مقارباً لل ٧ .

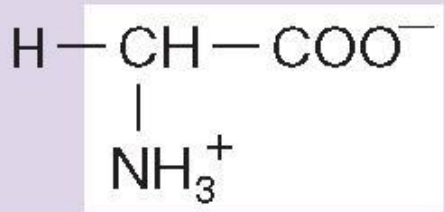
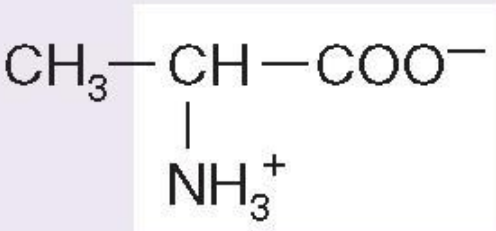
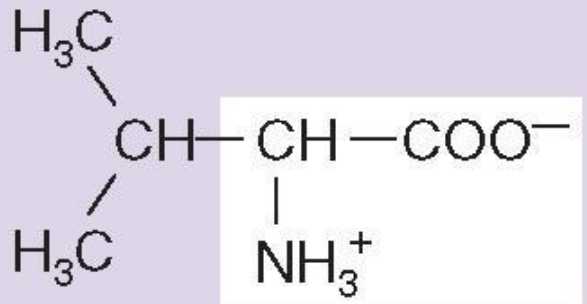
ويطلق على مجموعة الامين المتصلة بذرة الكاربون المجاورة المجموعة الكربوكسيل بمجموعة الامين الفا لذا فانها تعرف بالاحماض الامينية ألفا.

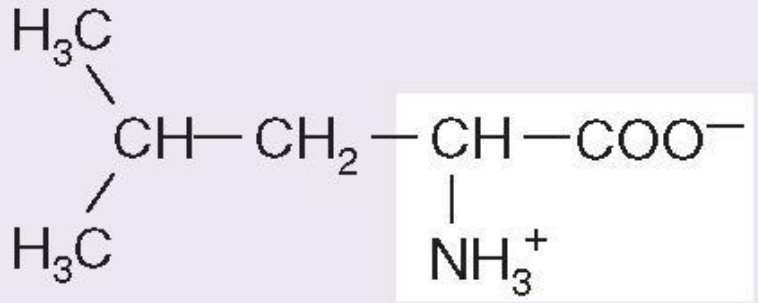
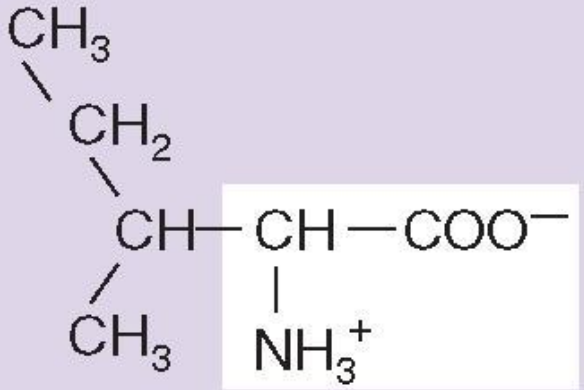
وهناك حوالي ٢٠ نوعا من الاحماض الامينية الفا تكون موجودة عامة في جميع انواع البروتينات. وهي تؤلف الوحدات البنائية الاساسية للبروتينات.

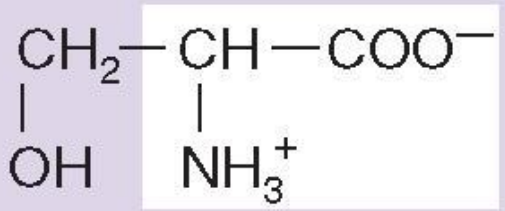
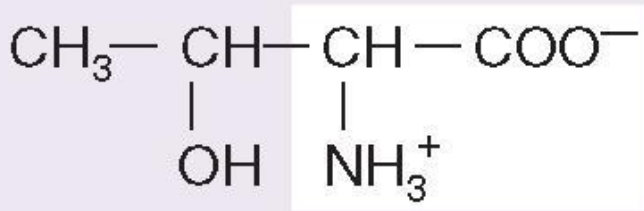
ويمكن تقسيم الاحماض الامينية الى مجموعات وذلك تبعا للتركيب الكيمياوي للمجموعة R المرتبطة بذرة الكاربون للحامض الاميني.

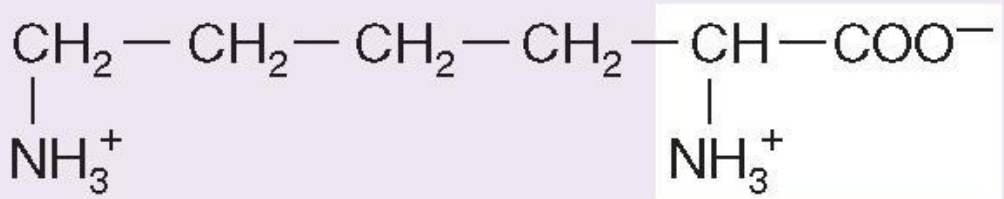
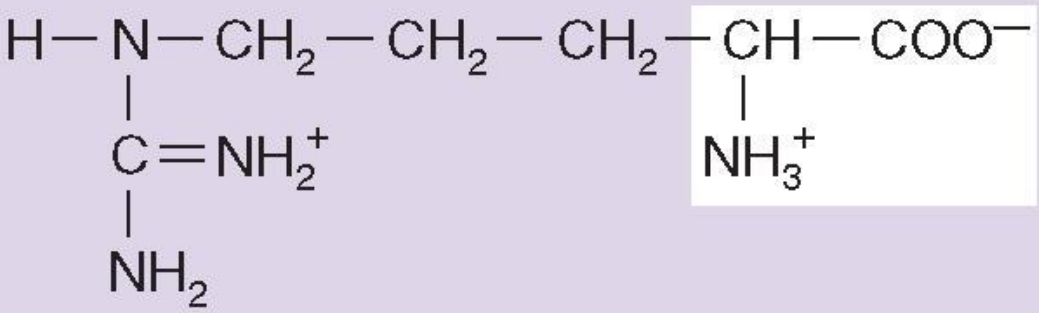
يبين الجدول ادناه الاسماء الشائعة للاحماض الامينية (بشكل متاين) ومختصراتها التي غالبا ما تستعمل للاشارة الى ترتيب هذه الاحماض الامينية في بروتين ما.

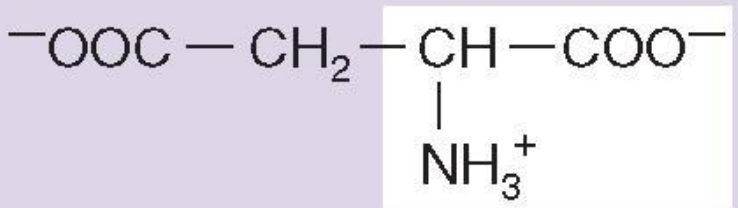
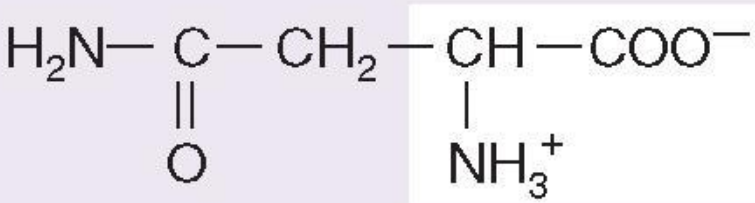
كما يبين الجدول ايضا الاحماض الامينية الاساسية essential amino acids اي التي لا يستطيع الانسان تكوينها داخل جسمه وبهذا يجب ان يتناولها مع الغذاء.

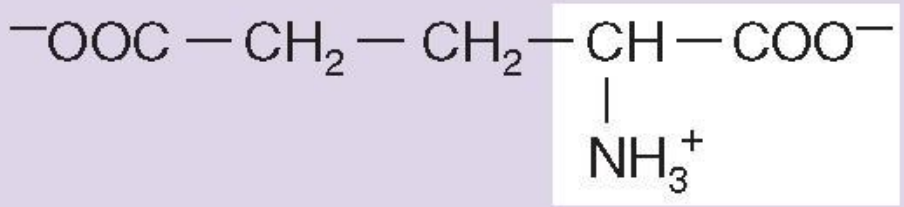
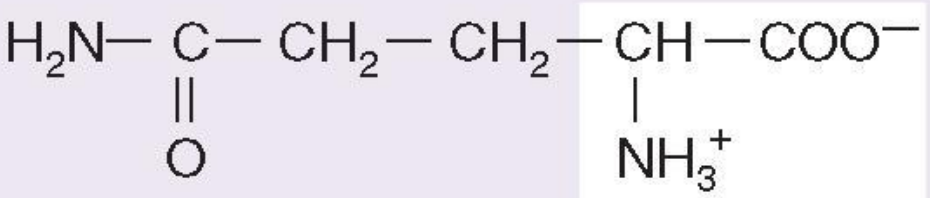
Name	Symbol	Structural Formula
With Aliphatic Side Chains الأليفاتية		
Glycine	Gly [G]	
Alanine	Ala [A]	
Valine	Val [V]	

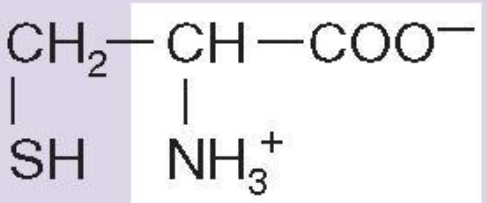
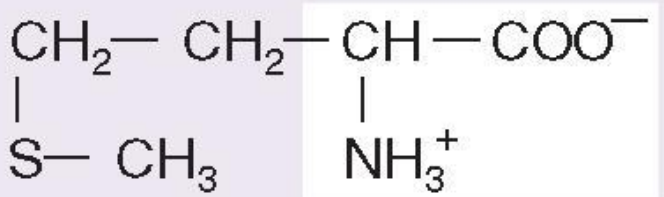
Name	Symbol	Structural Formula
With Aliphatic Side Chains الأليفاتية		
Leucine اساسي	Leu [L]	
Isoleucine	Ile [I]	

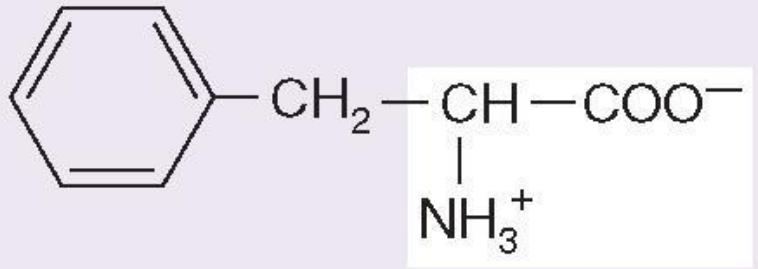
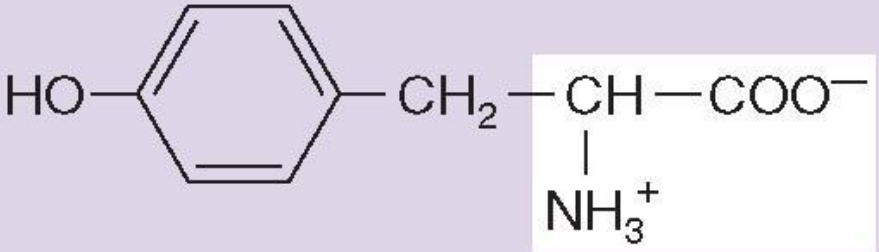
Name	Symbol	Structural Formula
With Aliphatic Side Chains الأليفاتية		
Serine	Ser [S]	
Threonine اساسي	Thr [T]	

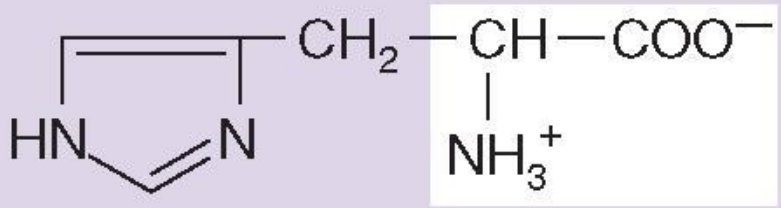
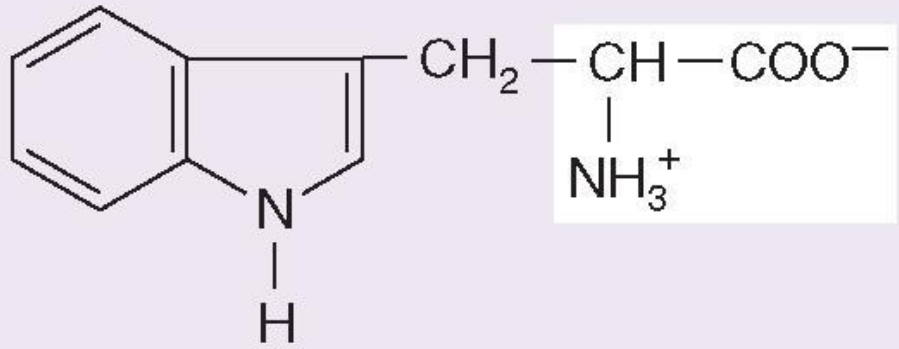
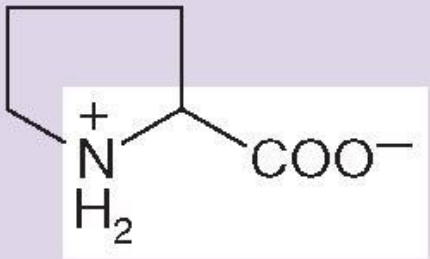
Name	Symbol	Structural Formula
With Side Chains Containing Basic Groups القاعدية		
Lysine	Lys [K]	
Arginine	Arg [R]	

Name	Symbol	Structural Formula
With Side Chains Containing Acidic Groups or Their Amides		**الحامضية أو اميداتها**
Aspartic acid	Asp [D]	
Asparagine	Asn [N]	

Name	Symbol	Structural Formula
With Side Chains Containing Acidic Groups or Their Amides		**الحامضية أو اميداتها**
Glutamic acid	Glu [E]	
Glutamine	Gin [Q]	

Name	Symbol	Structural Formula
With Side Chains Containing Sulfur Atoms الحاوية على كبريت		
Cysteine	Cys [C]	
Methionine اساسي	Met [M]	

Name	Symbol	Structural Formula
Containing Aromatic Rings	**اروماتية**	
Phenylalanine اساسي	Phe [F]	
Tyrosine	Tyr [Y]	

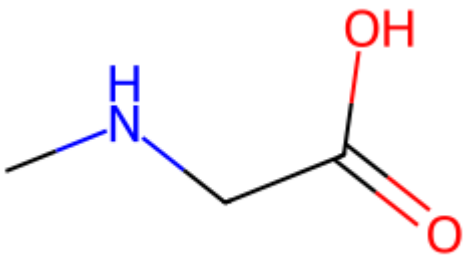
Name	Symbol	Structural Formula
With Side Chains Containing Acidic Groups or Their Amides		**غير متجانسة الحلقة**
Histidine	His [H]	
Tryptophan اساسي	Trp [W]	
Proline	Pro [P]	

الاحماض الأمينية النادرة في البروتينات

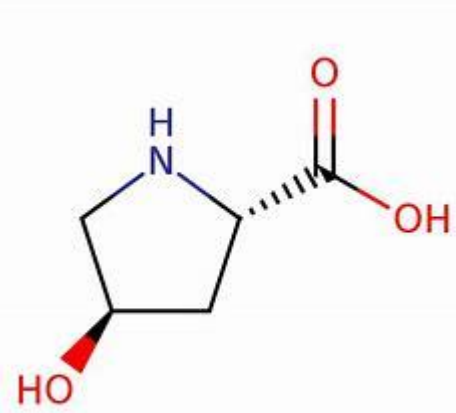
بالاضافة الى الاحماض الامينية البروتينية العامة هناك أنواع قليلة اخرى توجد كعناصر ثانوية في تركيب بعض البروتينات المتخصصة. وتعتبر هذه الاحماض النادرة من مشتقات الاحماض الامينية البروتينية.

ومن هذه الاحماض الامينية ٥- هيدروكسي لايسين 5-Hydroxylysine ، و ٤- هيدروكسي برولين 4-Hydroxyproline الموجودان في البروتين الليفي كولاجين Collagen ،

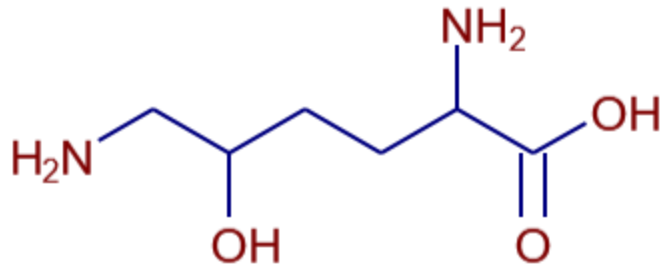
وكذلك N-مثيل لايسين N-Methyllysine الموجود في البروتين العضلي ما يوسين myosin



N-Methyllysine



4-Hydroxyproline



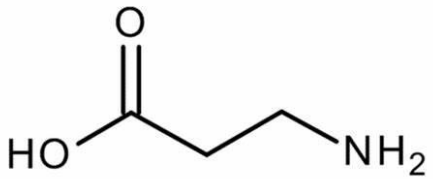
5-Hydroxylysine

الأحماض الأمينية غير البروتينية

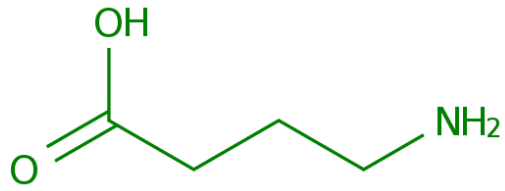
توجد هذه الاحماض الامينية اما بصورة طليقة او مرتبطة ولكنها لا تدخل في تركيب بروتينات الكائنات التي تنتجها مثل :

β-الانين وهو من المواد الاولية لفيتامين حامض بانتوثينيك pantothenic acid ،

وحامض ٧-امينوبيوتيريك 7-aminobutyric الذي يعد مثبط كيمياوي في مناطق معينة في الجهاز العصبي.



ß-alanine

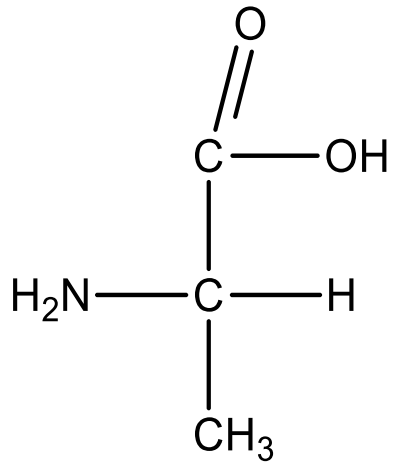


7-aminobutyric

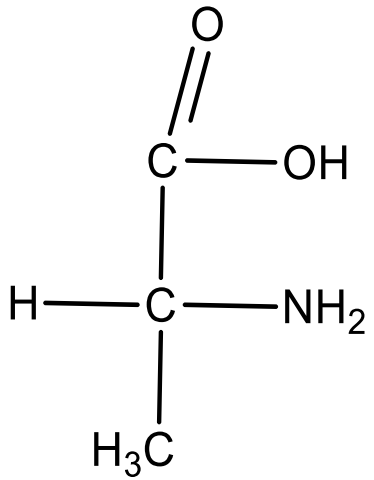
وتحتوي الفطريات والنباتات المتقدمة على مجموعة واسعة من الاحماض الامينية غير البروتينية المختلفة مثل كانافانين Canavanine و B-سيانو الانين B - cyanoalanine ، وحامض دينكوليك Djenkolic acid).. وهذه جميعاً تكون سامة لكائنات حية عديدة.

الفعالية البصرية للاحماض الامينية ptical activity of amino acid

تحتوي جميع الاحماض الامينية ما عدا الكلايسين على ذرة كاربون غير متماثلة في تركيبها الكيمياوي. وبهذا فهي يمكن ان تتواجد بشكل D او L



L-الانين

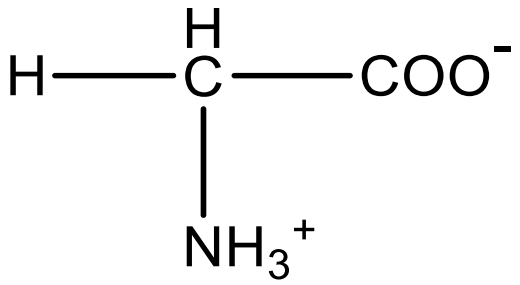


D-الانين

الخصائص الحامضية - القاعدية للاحماض الامينية

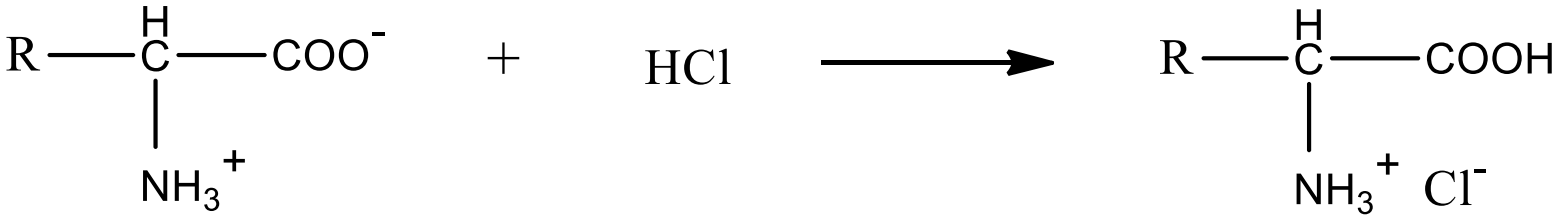
تسلك الاحماض الامينية سلوك الاحماض الضعيفة كذلك سلوك القواعد الضعيفة، وذلك لانها تحوي على مجموعة كربوكسيلية واحدة ومجموعة امين واحدة على الاقل. ويطلق على المواد التي تتأين حامضا وقاعدة في الوقت نفسه في المحاليل المائية، بالمواد ذات التفاعلين او امفوتيرية amphoteric .

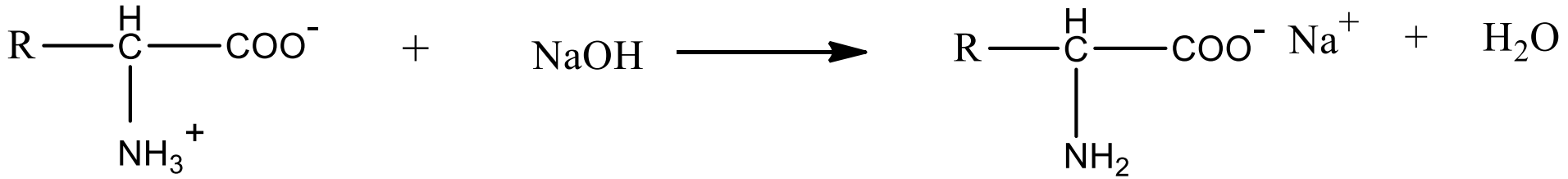
مثلاً لكلايسين تتأين كلا المجموعتين الحامضية والقاعدية في المحاليل لتكون ايونات ثنائية القطب (zwitter ion زفيتر ايون ، بالالمانية ثنائية الايون) ويكون جزئ الكلايسين متعادلاً كهربائياً ، حيث يحوي عدداً متساوياً من الشحنات الموجبة والسالبة. وبهذا فان جزئ الكلابسين يشكل الايون ثنائي القطب هذا ، سيكون متعادلاً كهربائياً isoelectric.



ويدعى الرقم الهيدروجيني (PH) الذي لا ينجذب فيه الايون الثنائي القطب في مجال كهربائي نحو اي من القطبين بنقطة التعادل (التماثل)) الكهربائي isoelectric point (PI)

تتفاعل المركبات الامفوتييرية مع كلا الاحماض والقواعد لتكون الاملاح كما مبين في المعادلات التالية

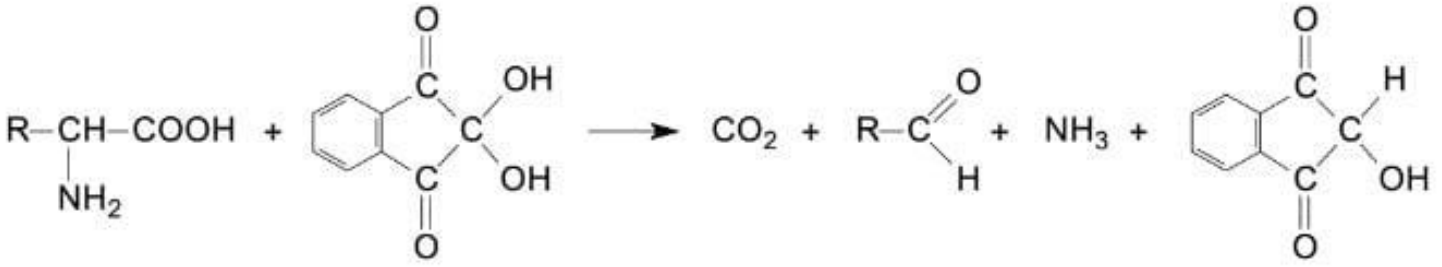




التفاعلات المهمة للاحماض الامينية

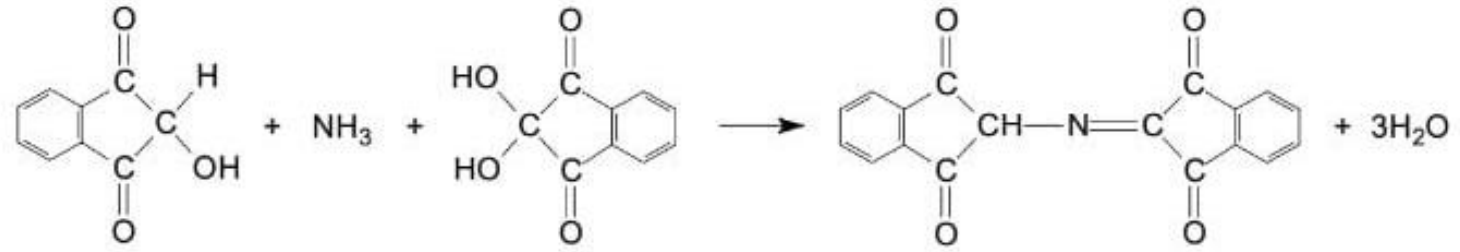
التفاعل مع النينهايدرين

تتفاعل الاحماض الامينية مع نينهايدرين لتكون الالديهايد ، NH_3 و CO_2 . ان كمية CO_2 التحررة من هذا التفاعل يمكن ان تستعمل للتقدير الكمي للاحماض الامينية.



Ninydrin Reduced ninydrin

اما NH_3 المتكونة في التفاعل نفسه فانها ترتبط بجزيئين من نينها يدرين لتكون مركباً أزرق اللون ، وهذا يشكل الاساس للطريقة اللونية المستعملة في التقدير الكمي للاحماض الامينية .



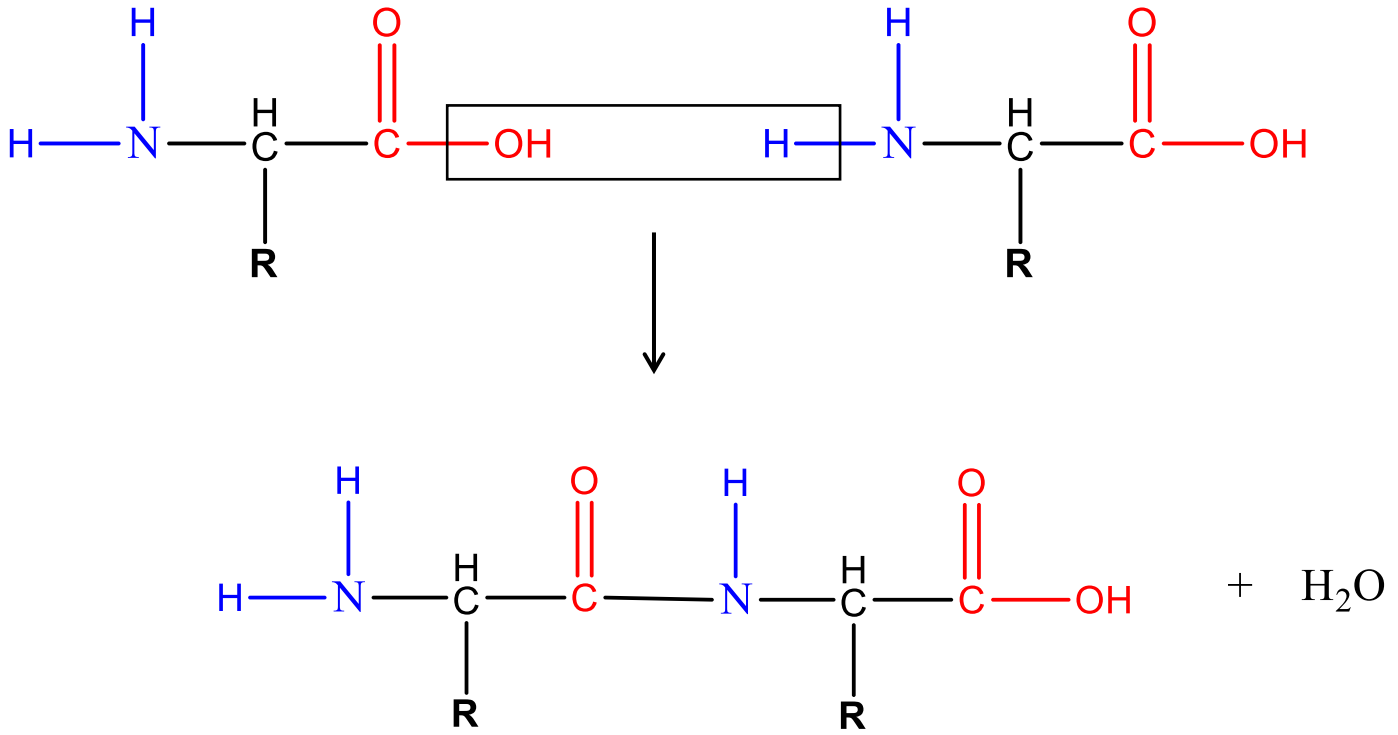
Reduced ninhydrin Ninhydrin Violet-blue condensation product

تفاعلات لونية لاحماض امينية معينة

اسم الكاشف	الحامض الاميني	النتيجة
ميلون Millon	تايروسين	معقد احمر اللون
هوبيكنس-كول Hopkins-Cole	تربتوفان	لون بنفسجي
ساكاكوشي Sakaguchi	ارجنين	لون احمر
صوديوم نيترو بروسيد	السايستين او البروتين المحتوي على مجموعة SH–	لون احمر
فان سلايك	جميع الاحماض الامينية التي تحوي على مجموعة امين حرة	تقدير حجم غاز النتروجين المتحرر
كاشف سانكر	جميع الاحماض الامينية التي تحوي على مجموعة امين حرة ضمن تركيب البروتين	لون اصفر

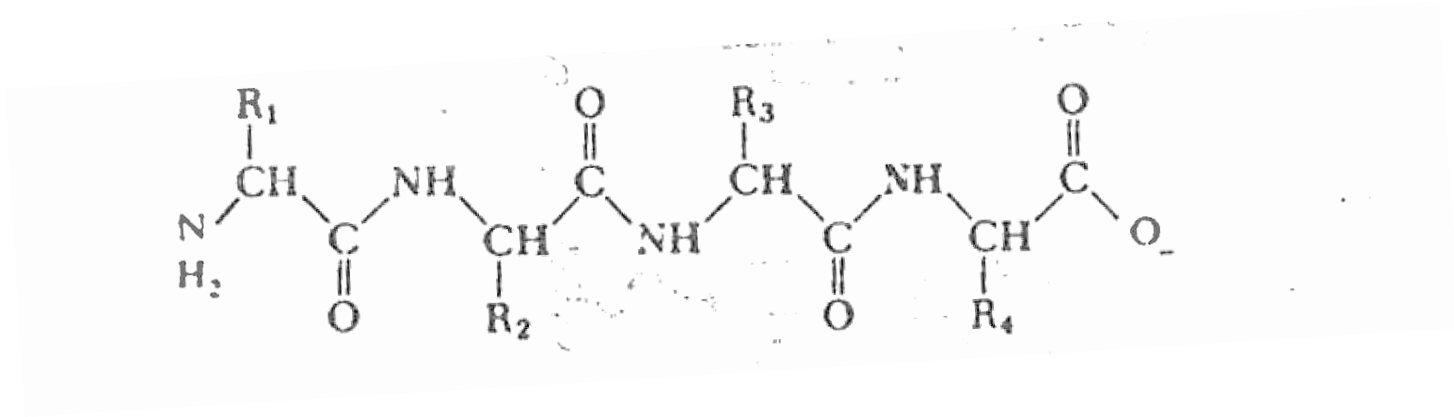
البيبتيدات Peptides أو متعدد البيبتيد Polypeptides

ترتبط الاحماض الامينية مع بعض بوساطة اواصر بيبتيدية لتكون جزيئات بيبتيد وبروتين. والاواصر البيبتيدية هي اصرة اميد متكونة من تفاعل مجموعة الكاربوكسيل الفا للحامض الاميني الاول مع مجموعة الامين الفا للحامض الاميني الاخر ويصاحبها فقدان جزيئة ماء



بيبتيد ثنائي

أما عند اتحاد ثلاثة أحماض امينية فان الناتج يدعى ببتيد ثلاثي tripeptide ، وعند اتحاد عدد كبير من الاحماض الأمينية بوساطة الأواصر البيبتيدية فإن الناتج يدعى بيبتيد متعدد polypeptide. وتدعى الأحماض الامينية المكونة لبيبتيد ما يمتخلفات الأحماض الأمينية amino acid residues وذلك اشارة لما تبقى منها بعد فقدانها جزيئات الماء لتكوين الأواصر البيبتيدية. وتنتهي السلسلة البيبتيدية من الطرف الأيسر بمجموعة أمين حرة amino terminal . بينما تنتهي بمجموعة كاربوكسيل حرة carboxyl terminal عند الطرف الأيمن.

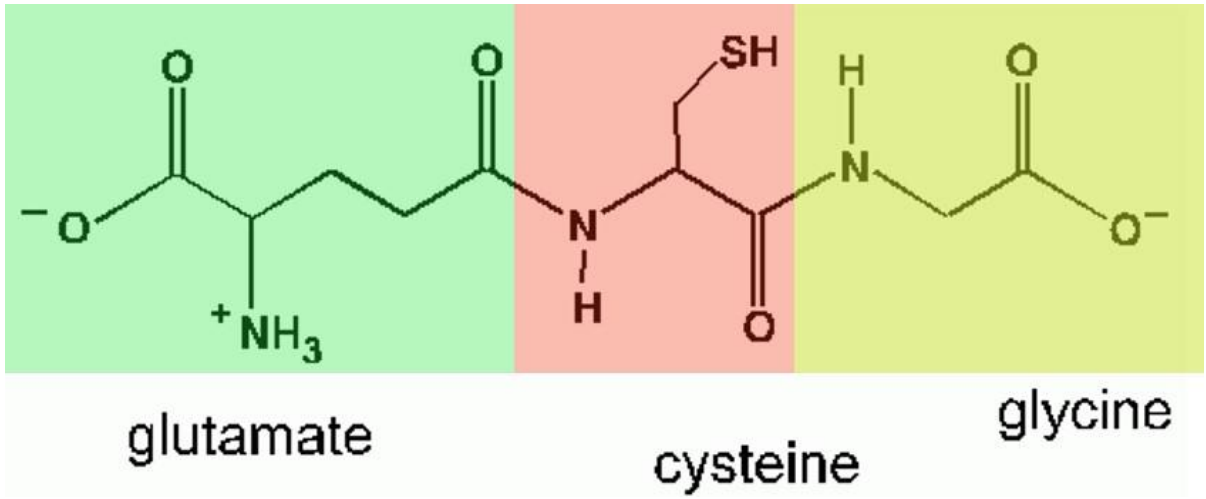


يطلق عادة على متعدد البيبتيد الذي يكون وزنه الجزيئي أكثر من ٥٠٠٠ ويحوي أكثر من ٤٠ وحدة من مخلفات الاحماض الأمينية بالبروتين. أما اذا كان جزئ البيبتيد أصغر من هذا فيطلق عليه بمتعدد بيبتيد.

الببتيدات الفعالة فسيولوجيا

تحتوي خلايا الحيوان ، النبات والبكتريا على مركبات متعددة البيبتيد ذات وزن جزيئي واطيء ولها فعاليات فيسيولوجية مهمة مثلاً، البيبتيد الثلاثي glutamate-cysteine-glycine الكلوتاثيون والذي يتالف من ثلاث احماض امينية وهي موجودة في جميع الكائنات الحية. وفي الانسان والحيوان ، يكون وجود الكلوتاثيون ضرورياًالعمل العديد من الانزيمات

وكذلك لعمل الانسولين



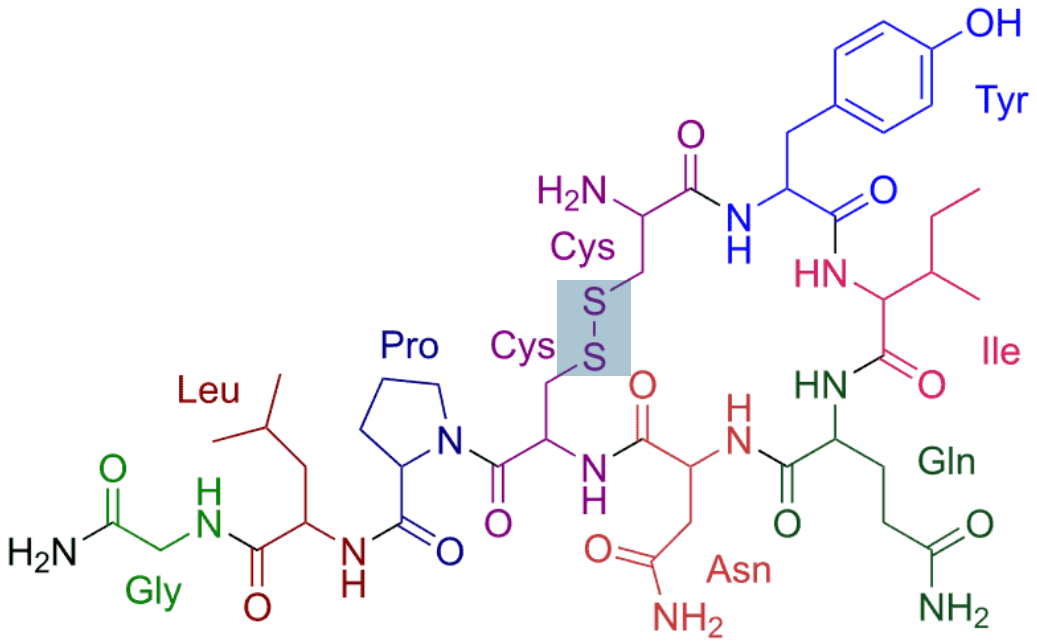
ان الكلوتاثايون يعمل كمادة ضد التاكسد، حيث يحافظ على وجود مجموعات SH الموجودة في الانزيمات وفي البروتينات الاخرى بشكاها المختزل. والكلوتاثايون يعمل كواهب للالكترون.

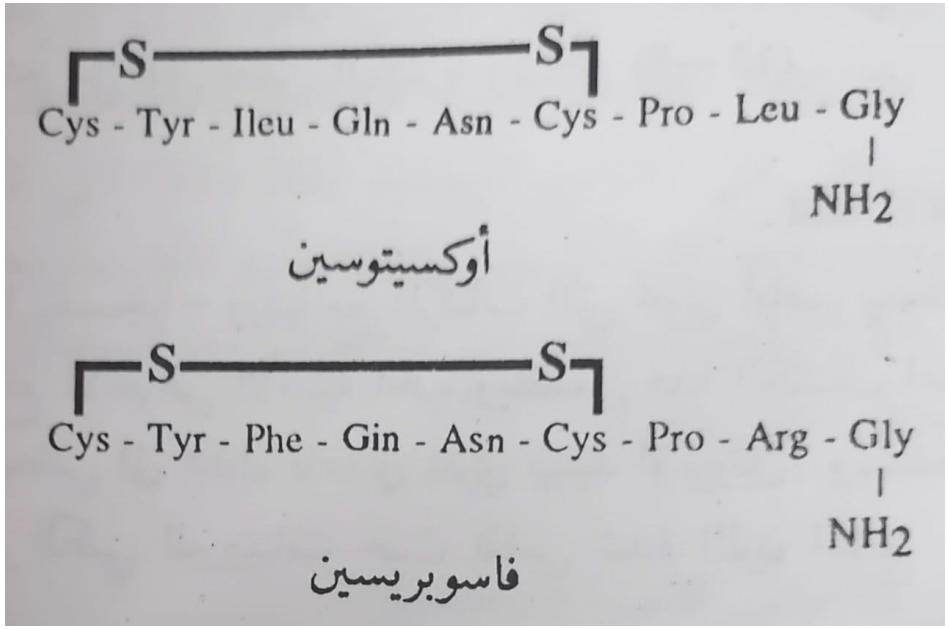
كما يعمل الكلوثاثيون مع انزيم كلوثاثيون بيروكسيديس glutathione peroxidases (GP) على إزالة مركبات البيروكسيدات العضوية و H_2O_2 السامة. حيث يتفاعل كلوتاثيون (GSH) مع كلاً من هذه المركبات ، لينتج كلوتاثيون مؤكسد (GSSG) وماء كمايأتي :

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GP} GSSG + 2H_2O$$

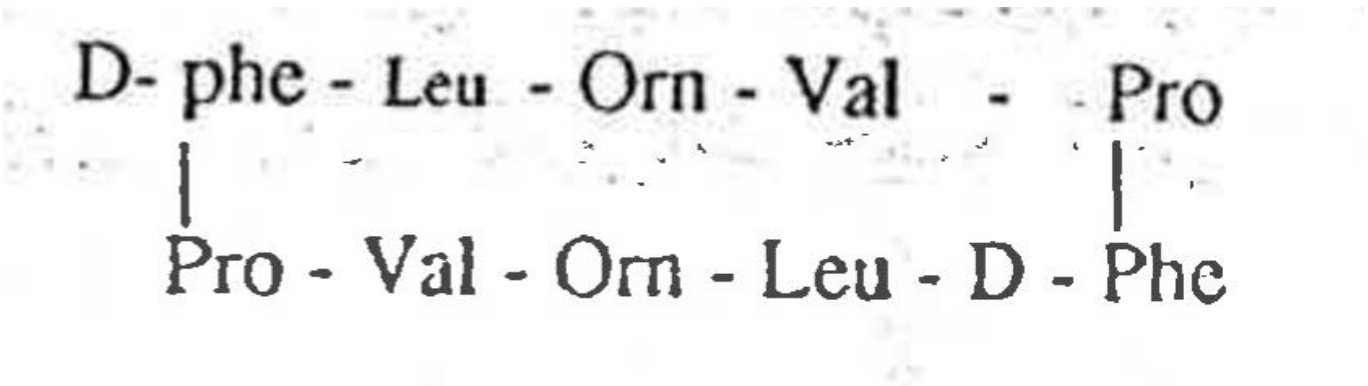
اما هورمونات اوكسيتوسين (يعمل على تقلص العضلات الملساء) و فاسوبرسين (يعمل على تقلص الاوعية) التي تفرز من الفص الخلفي للغدة النخامية فهما عبارة عن ببتيدات حلقية كبيرة.

ان كل من الاوكسيتوسين و الفاسوبرسين ببتيدا محتوي على تسعة احماض امينية وعلى جسر ثنائي الكبريت يربط وحدتي السايستين عبر ٤ احماض امينية. غير ان كلا الببتيدين يختلفان عن بعض بوحدتين فقط من الاحماض الامينية المكونة وهذا الاختلاف ادى الى اختلاف الفعالية الفيزيولوجية لكل منهما.





ويعد الكراميسيدين Gramicidin ، من المضادات الحيوية antibiotic ، وهو بيبتيد حلقي مؤلف من عشرة أحماض أمينية ، وينتج من قبل بعض البكتريا



تحلل الببتيدات Hydrolysis of Peptides

تكمن المرحلة الأولى في تجديد التركيب الأولي لسلسلة ببتيدية (أو البروتين ما) ، بالتشخيص والتقدير الكمي لمكوناته من الاحماض الامينية. ولهذا الغرض تحلل الأواصر البيبتيدية التي تربط الأحماض الامينية باحد العوامل التالية :

١. التحلل الحامضي

تتحلل معظم البيبتيدات (والبروتينات) كلياً الى احماض أمينية، وذلك بتسخين البيتيد مع HCL عند ١١٠ م لمدة تتراوح ما بين ٢٠ - ٧٠ ساعة في معزل عن الهوله لمنع حدوث اي تأكسد جانبي . غير أن في طريقة التحلل هذه تتحول جميع وحدات كلوتامين وأسباراجين إلى حامضي كلوتاميك وأسبارتيك على التوالي علاوة على الأمونيا. ويمكن إحتساب كمية الكلوتامين والأسباراجين بواسطة تحديد كمية الأمونيا الناتجة من التحلل. كما يعمل التحلل الحامضي على هدم وحدات التريبتوفان للبيبتيد. كما يفقد حامض الكلوتاميك جزيئة ماء ويتحول الى مركب حلقي يدعى حامض بايروليدون -٥-كاربوكسيليك pyrrolidone-5-carboxylic

٢. التحلل القاعدي Alkaline hydrolysis

تستخدم هذه الطريقة لتحديد التريبتوفان الذي لا يتأثر بالتحلل القاعدي. حيث تعامل عينة ببتيدية اخرى مع NaOH ، وفي هذه الحالة فإن أحماضاً أمينية عديدة تتحطم ، غير ان التريبتوفان يبقى مصوناً

٣. التحلل الانزيمي Enzymatic hydrolysis

يوجد عدد من الأنزيمات الخاصة لها القابلية على كسر الأواصر البيبتيدية ، ويطلق عليها بالأنزيمات المحللة للبروتينات Proteolytic enzyme . مثل أنزيم ترييسين Trypsin الذي يحفز تحلل الأواصر البيبتيدية CO-NH التي تشارك فيها وحدات اللايسين والأرجينين بمجموعة الكاربونيل وكذلك أنزيم الكايموتريبسين Chymotrypsin الذي يحفز تحلل الأواصر البيبتيدية التي تشارك فيها وحدات فينايل ألانين ، تريبتوفان والتايروسين بمجموعة الكاربونيل .

فصل الأحماض الأمينية وتشخيصها

إن الأحماض الأمينية الحرة الناتجة عن التحلل الكامل للبيبتيد أو البروتين يمكن فصلها وتشخيصها باستخدام تقنيات الكروماتوكرافيا او الهجرة الكهربائية المختلفة.

الكروماتوكرافي Chyomatography

تشمل تقنية الكروماتوكرافي على أنواع عديدة تتضمن كروماتوكرافيا : الورقي ، الطبقة الرقيقة ، التبادل الأيوني ، العمود ، الغاز السائل ، الترشيح الهلامي ، كروماتوكرانيا الإلفة ، وكروماتوكرافيا السائل ذو الضغط العالي.

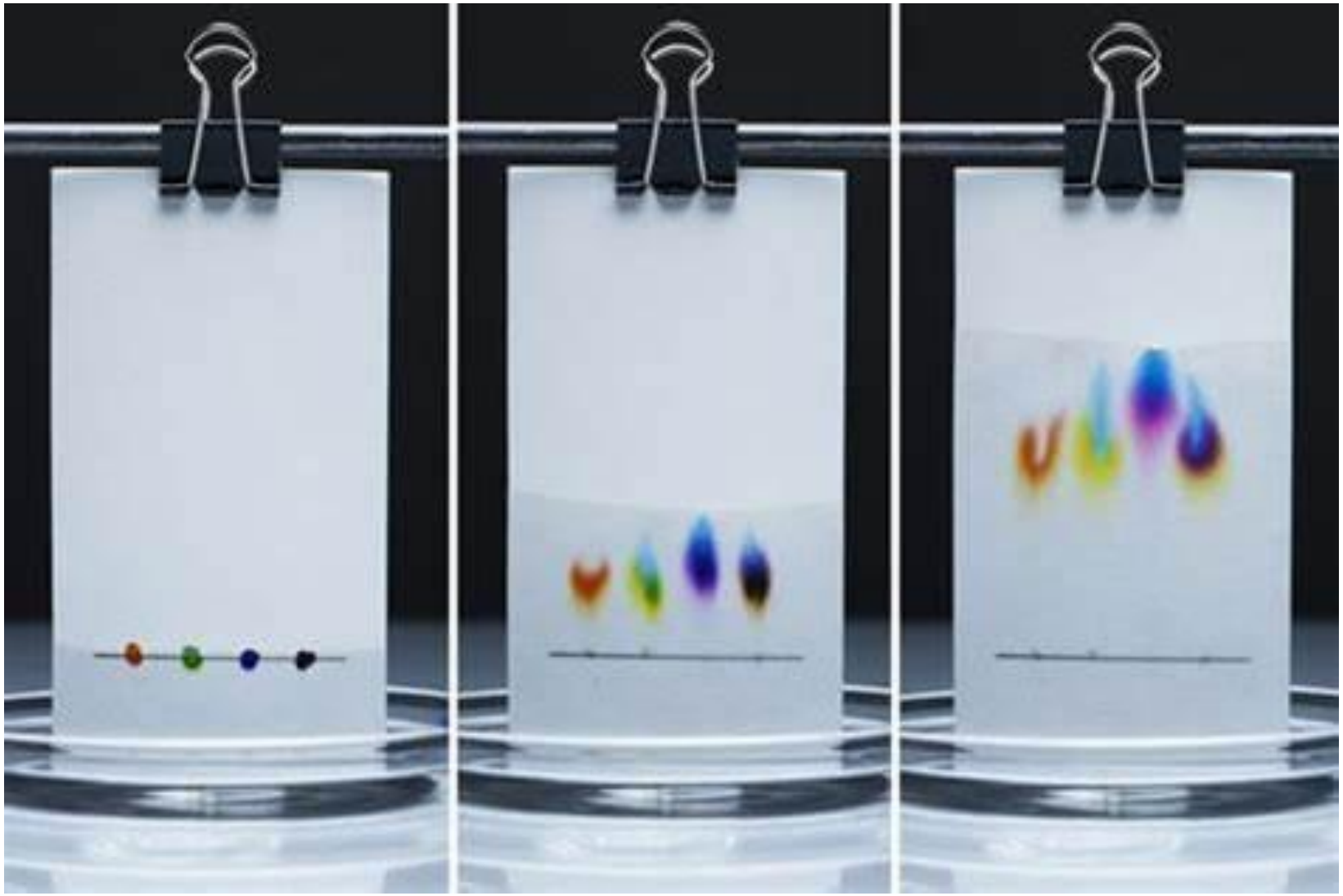
تستخدم تقنية الكروماتوكرافي في فصل مركبات مختلفة ، وتعتمد جميعها على مبدأ واحد هو مبدأ التقسيم اذ يتوزع المركب او مزيج المركبات المراد فصله باستمرار وطيلة فترة التجربة بين طورين أحدهما ثابت والآخر متحرك ، وهذا يسمح للمركبات المختلفة ان تنفصل عن بعض اعتماداً على معامل التقسيم partition coefficient، الخاص بكل منها وعلى درجة (مدى) ذوبانها في كل من الطور الثابت والمتحرك.

الكروماتوكرافيا الورقي Paper chromatography

يستخدم الكروماتوكرافيا الورقي في فصل كثير من المركبات العضوية ومن ضمنها الاحماض الامينية والسكريات. ان مبدأ الفصل التجزيئي ينطبق على عملية الفصل الكروماتوكرافي الورقي للاحماض الامينية مثلا بوساطة ورق الترشيح الذي يتكون من الياف سيليلوزية متميأة .فعندما يصعد المذيب او نظام المذيبات الحاوي على خليط الاحماض الامينية عمودياً في الورقة بواسطة الظاهرة الشعرية أو ينحدر الى اسفل في عملية الفصل الكروما توكرافي المنحدر.

تتوزع عينة الاحماض الامينية بين الطور المتحرك والطور المائي الثابت المرتبط بالياف الورقة وفي نهاية هذه العملية تكون الاحماض الامينية قد تحركت بأبعاد مختلفة عن نقطة الاصل.

ان النسبة بين المسافة التي يقطعها الحامض الاميني الى المسافة التي يقطعها السائل المذيب تدعى سرعة السريان (rate follow) Rf .
ان لكل حامض اميني قيمة Rf عند استخدام مذيب معين. وبهذا يمكن فصل وتشخيص الحامض الاميني المجهول.



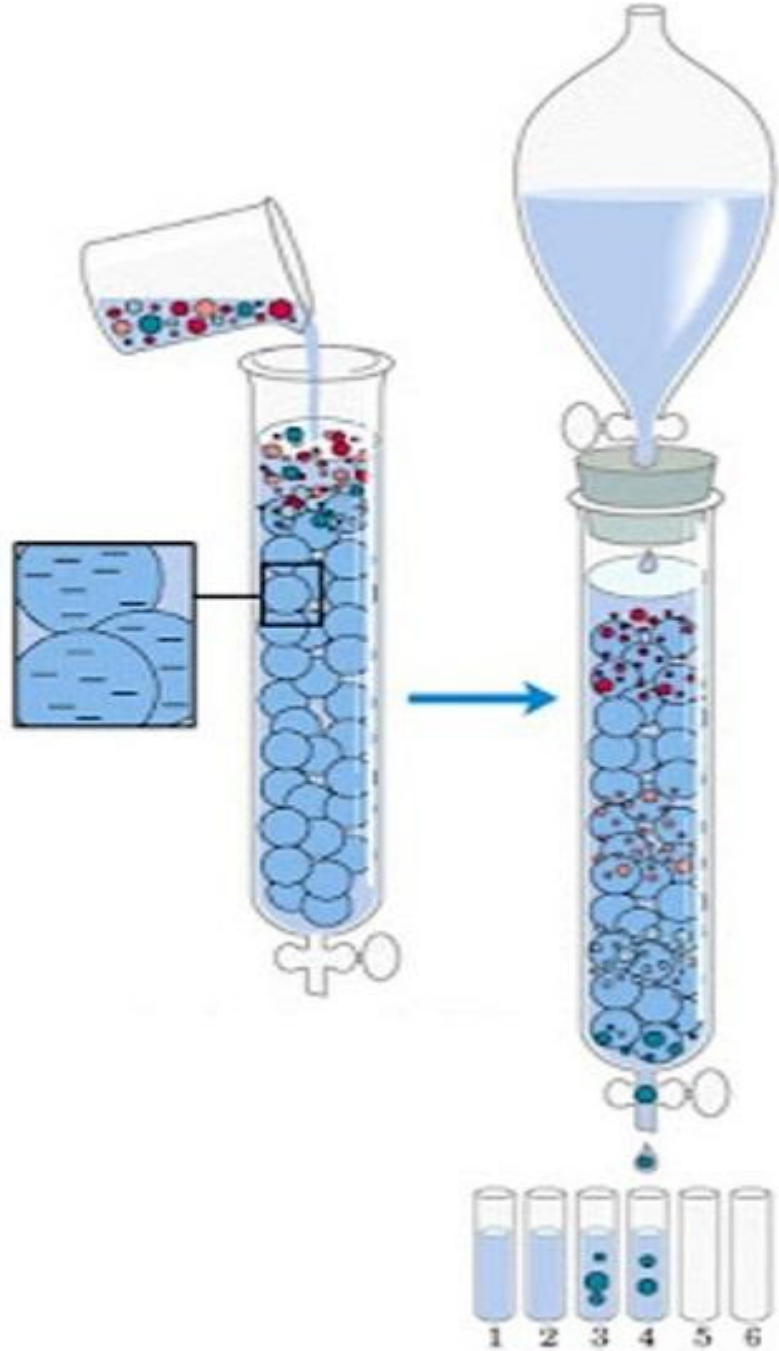
كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة **Thin-Layer chromatography**

كروماتوكرافيا التبادل الأيوني **Ion exchange chromatography**

كروماتوكرافيا عمود الفصل **Column chromatography**

تستخدم طريقة الفصل الكروماتوكرافي التجزيئي باستخدام عمود زجاجي طويل رصت فيه حبيبات من مواد خاملة كاربوهيدراتية كالنشأ او السيليولوز. وتحوي كل حبيبة على طبقة ماء متماسكة بشدة تستخدم كطور مائي ثابت Stationary Phase عند مرور المذيبات الى اسفل العمود بواسطة الجاذبية تتحرك الاحماض الأمينية في الخليط الى اسفل العمود بنسب مختلفة **معتمدة** على مكافيء الفصل التجزيئي لها بين الطور المتحرك والطور الثابت (المركبات ذات **قابلية ذوبان أعلى** في الطور المتحرك (المذيب) تنتقل بسرعة). ويجمع السائل الذي يترشح من اسفل العمود بواسطة جهاز تجميع الأجزاء التلقائي ثم تعامل كلاً من هذه الأجزاء مع الكاشف ننها يدرين ، والمعقد الناتج ذو لون بنفسجي يمتص الضوء في جهاز المطياف Spectrophotometer عند طول موجي ٥٧٠ نانوميراً .

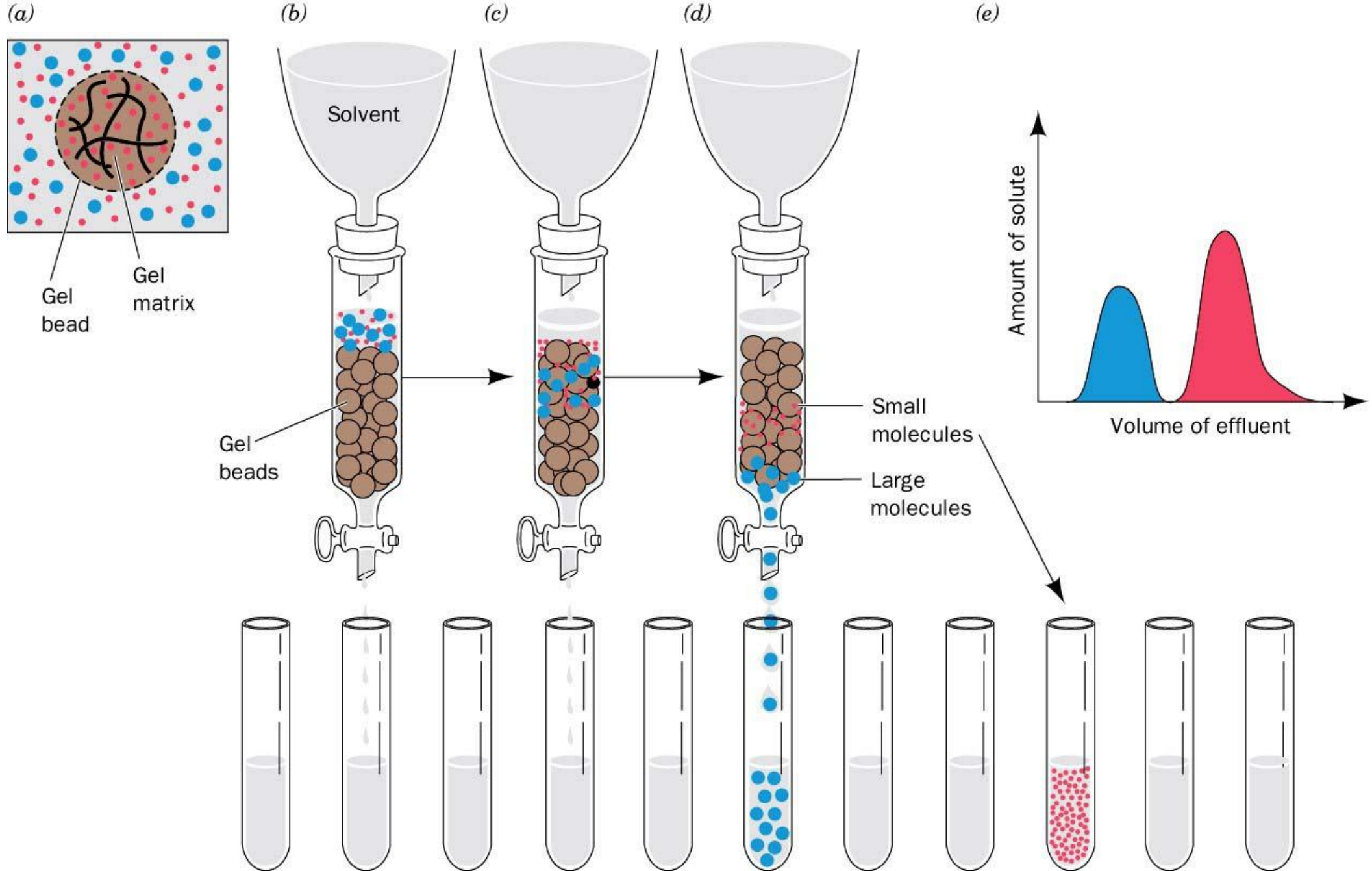
وبهذه الطريقة يمكن احتساب تركيز الحامض الاميني المجهول بدلالة تركيز الحامض الاميني المعلوم بالطرق الحسابية البسيطة المعروفة


1
2
3
4
5
6

كروماتوكرافيا الترشيح الهلامي Gel filtration

كروماتوكرافيا الترشيح الهلامي ويسمى ايضاً كروماتوكرافيا الغربال الجزيئي molecular أو كروماتوكرافيا الاستبعاد الجزيئي . ويستعمل في هذه الطريقة دقائق ذو مسامية معينة منتفخة (محبة للماء) تدعى هلام مثل هلام الديكستران dextran ، سيفاديكس Sephadex أو أكاروز Agarose والذي هو مشتقات متعدد السكريات ، أو هلام بايوجيل - Bio gel الذي هو مشتقات متعدد أكريل أميد Polyacrylamide ، وتحضر جميعاً بدرجات مختلفة من المسامية.

وتعتمد طريقة الفصل هذه على الحجم الجزيئي المركبات المزيج المعين. حيث أنه بعد تعبئة عمود الفصل بالهلام المحدد ، ثم إضافة محلول المزيج بروتينات مثلاً ، الى اعلى العمود ، فإن الجزيئات الكبيرة لا تستطيع إختراق (أو النفوذ) مسامات دقائق الهلام ، وإنما تمر بسهولة من بين هذه الدقائق ، وتترشح أولاً من العمود. أما الجزيئات الأصغر فإنها تنفذ الى داخل مسامات (الفراغات البينية في كل دقائق) الهلام مما يؤدي الى إعاقتها من النزول بسرعة، وبذلك تترشح من عمود الفصل بعد الجزيئات الكبيرة. وتستخدم هذه الطريقة أيضاً لتقدير الوزن الجزيئي للبروتينات . حيث تستخدم بروتينات ذو أوزان جزيئية معلومة في نفس التجربة لهذا الغرض.

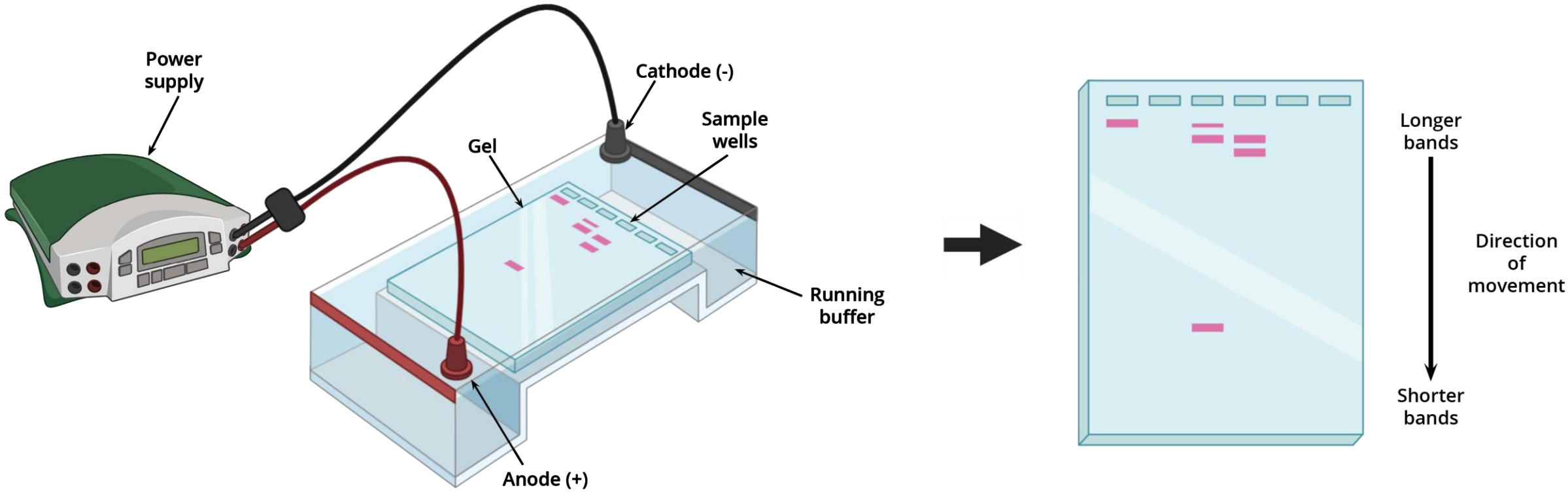

(a)
(b)
(c)
(d)
(e)
Gel bead
Gel matrix
Solvent
Gel beads
Small molecules
Large molecules
Amount of solute
Volume of effluent

كروماتوكرافيا الغاز السائل

كروماتوكرافيا الالفة

الهجرة الكهربائية (الإستشراد) Electrophoresis

تعني الهجرة الكهربائية تحرك المركبات الأيونية الذائبة نحو أحد القطبين في مجال كهربائي . ويستخدم هذا النوع من الفصل في تحليل البروتينات ، البيبتيدات ، الأحماض الأمينية وغيرها من المركبات. **ويعتمد** الفصل بالهجرة الكهربائية على محصلة الشحنة للمركب وعلى الرقم الهيدروجيني للوسط الذي تحدث فيه الهجرة وكذلك على الفولتية الجهد الكهربائي المستعملة. وعند تسليط مجال كهربائي ذو فولتية عالية تتراوح بين ٢٠٠٠-٥٠٠٠ فولت ، لفترة تصل إلى ساعتين أو أكثر، يسمى هذا النوع من الفصل بالهجرة الكهربائية ذو جهد high voltage electrophoresis كهربائي عال في حالة فصل محلول المزيج من البروتينات مثلاً فإن هذه البروتينات تملك شحنة كهربائية وذلك بسبب إحتوائها على وحدات الأحماض أمينية ذات مجموعات وظيفية متأينة ، مما يجعلها تتحرك بإتجاه مغاير لشحنتها عند مرور التيار الكهربائي خلالها . وحيث ان مكونات البروتينات من الأحماض الأمينية تكون مختلفة ، لذا فإن البروتينات المختلفة تملك شحنات مختلفة عند الرقم الهيدروجيني المعين. وبذلك فإن سرع حركتها في المجال الكهربائي تكون مختلفة . وباستخدام طرق بصرية ملائمة يمكن تحديد عدد البروتينات الموجودة في المحلول وكذلك متابعة سرع حركتها المختلفة في المجال الكهربائي


Power supply
Cathode (-)
Sample wells
Gel
Running buffer
Anode (+)
Longer bands
Direction of movement
Shorter bands

بؤرة التعادل الكهربائي Isoelectric focusing

تعتبر بؤرة التعادل الكهربائي، تحوير أخر لتقنية الهجرة الكهربائية . وتستخدم بؤرة التعادل الكهربائي لفصل مزيج الأحماض امينية او بروتينات ، حيث ان لكل حامض أميني أو بروتين نقطة تعادل كهربائي Isoelectric point (PI) وهي قيمة الـ PH الذي تصبح عنده شحنة ذلك المركب، صفراً.

فعند وضع قطرة من العينة على سطح المادة الهلامية المحضرة بمدى واسع من محلول منظم متدرج في قيم الـ PH فإن كل حامض أميني يتحرك تحت تأثير التيار الكهربائي ، متوقفاً في منطقة ذو PH مطابقة لنقطة التعادل الكهربائي العائدة له.

إن الأحماض الأمينية وكذلك البروتينات التي لها نقاط تعادل مختلفة يمكن فصلها بسهولة بوساطة تقنية بؤرة التعادل الكهربائي

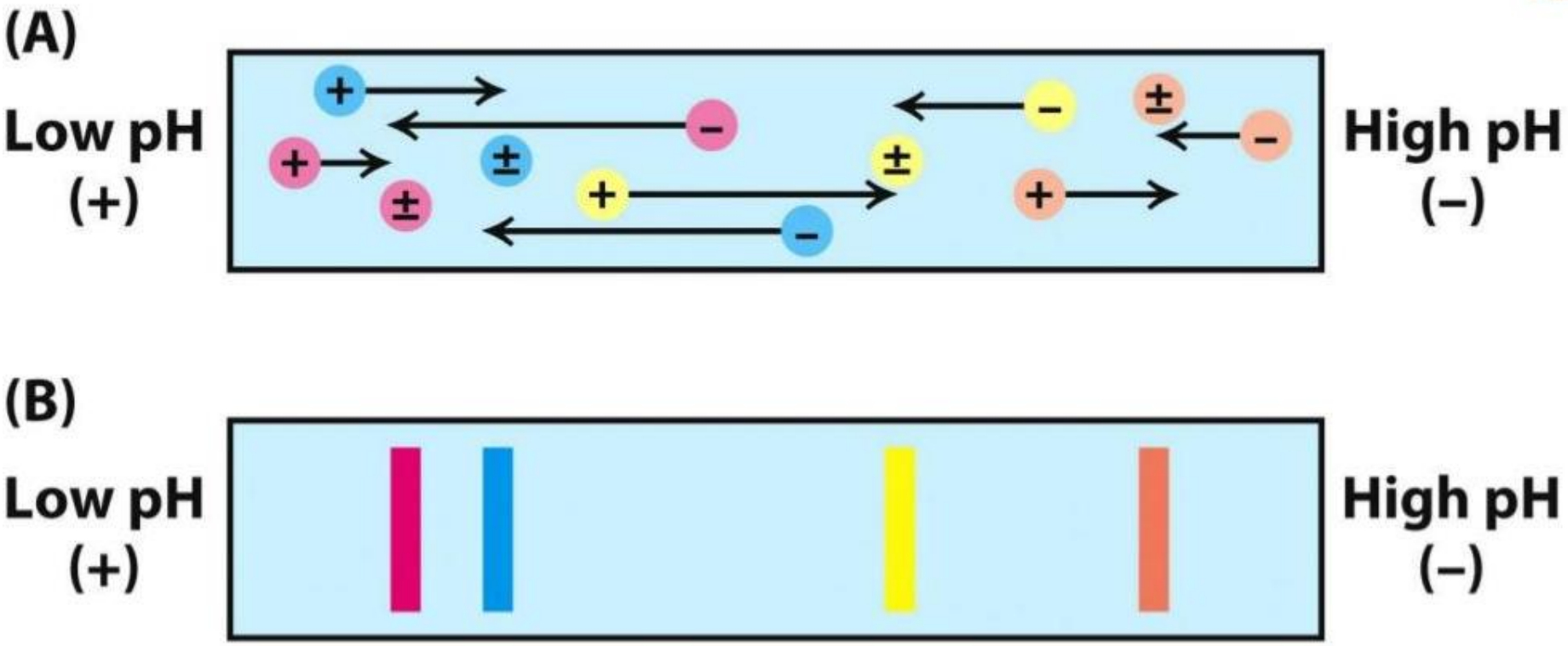


Figure :The Principle of Isoelectric Focusing

A pH gradient is established in a gel before loading the sample.

(A) The sample is loaded and voltage is applied. The proteins will migrate to their isoelectric pH, the location at which they have no net charge.

(B) The proteins form bands that can be excised and used for further experimentation.

الاهمية البايولوجية لتسلسل الاحماض الامينية

١- عند معرفة عدد وتسلسل الاحماض الأمينية في متعدد البيبتيد المستخلص من المصادر الطبيعية ، فانه بالامكان تصنيع ذلك البيبتيد بطريقة كيمياوية في المختبر حيث يكون بالامكان تصنيع اي بروتين كيمياوياً لاغراض صناعية أو طبية.

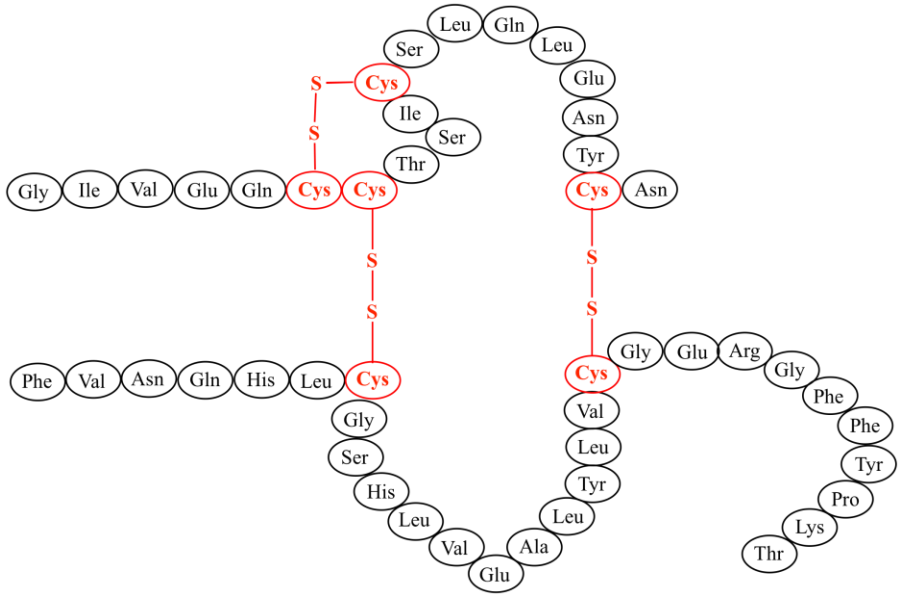
٢- من دراسة فقر الدم الهلالي (المنجلي) Sickie cell anemia، وهو عبارة عن مرض وراثي ناجم عن طفرة وراثية ادت الى استبدال وحدة الحامض الاميني الطبيعي كلوتاميك في الموقع ٦ من السلسلة بيتا الجزيئة الهيموكلوبين السليمة عند البالغين والذي يعبر عنه (HbA)، بوحدة الحامض الاميني فالين Valine، فينتج عن هذا الاستبدال بأن تأخذ كريات الدم الحمراء شكلاً منجلياً أو هلالياً Sickle ويعبر عنه HbS)، وتتميز كرية الدم المريضة HbS بقلة استيعابها للاوكسجين عندما تتحد به مقارنة بكرية الدم الحمراء الطبيعية HbA . اذن فمعرفة عدد الاحماض الامينية الجزيئة الهيموكلوبين وتسلسلها ادخلت علماً جديداً لمعرفة تسلسل الاحماض الامينية للبروتينات الأخرى في الجسم.

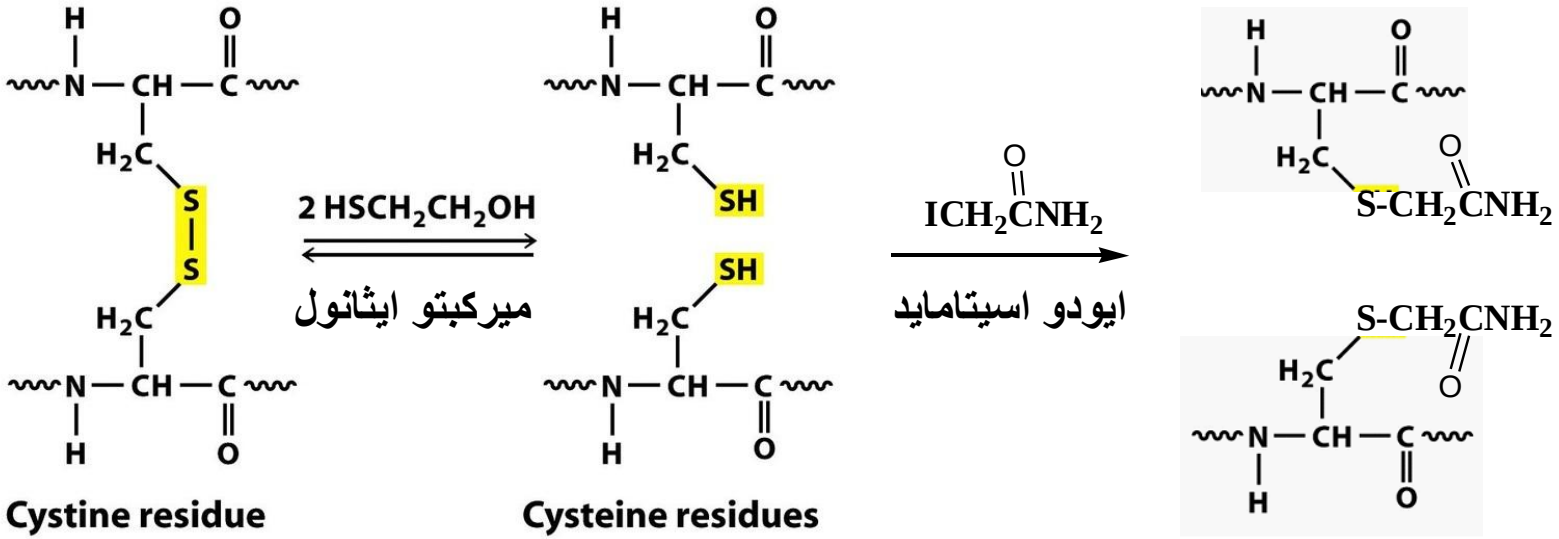
٣- نظراً لتقدم علوم الكيمياء الحياتية الوراثية فمن المتوقع مستقبلاً التحكم بالجين الذي يقوم بتصنيع البروتين، وذلك بادخال برنامج يوجه الجين لتوليد بروتين سليم ، وبهذه الطريقة يمكن التغلب على حدوث الطفرات التي تنجم عنها الامراض الوراثية.

فصل السلاسل البيبتيدية المكونة لجزيء البروتين

عند تطبيق احدى الطرق آنفة الذكر لتشخيص متخلفات الاحماض الامينية ذات النهاية الامينية او الكاربوكسيلية يمكن بهذا معرفة عدد السلاسل البيبتيدية المكونة لذلك الجزيء من البروتين، وبهذه الحالة ينبغي فصل السلاسل البيبتيدية كلا على حدة قبل اجراء عملية تحديد تسلسل متخلفات الاحماض الامينية لهذا البروتين.

ان الاصرة الثنائية الكبريت للسايستين cystine التي تربط بين جزئي سلسلة ببتيدية واحدة أو بين سلسلتين بيبتيديتين مختلفتين يمكن فصلها بوساطة الاكسدة او الاختزال. وعند اختزال الاصرة ثنائية الكبريت فانه ينبغي الكلة مجاميع الـ SH الناتجة لكي يمنع هذا من التأكسد التلقائي الى الشكل ثنائي الكبريت مرة اخرى.




2 HSCH2CH2OH
میرکبتو ایثانول
ICH2CNH2
ایودو اسیتامايد
Cystine residue
Cysteine residues
S-CH2CNH2
S-CH2CNH2

تحديد تسلسل الاحماض الامينية في سلاسل متعدد الببتيد

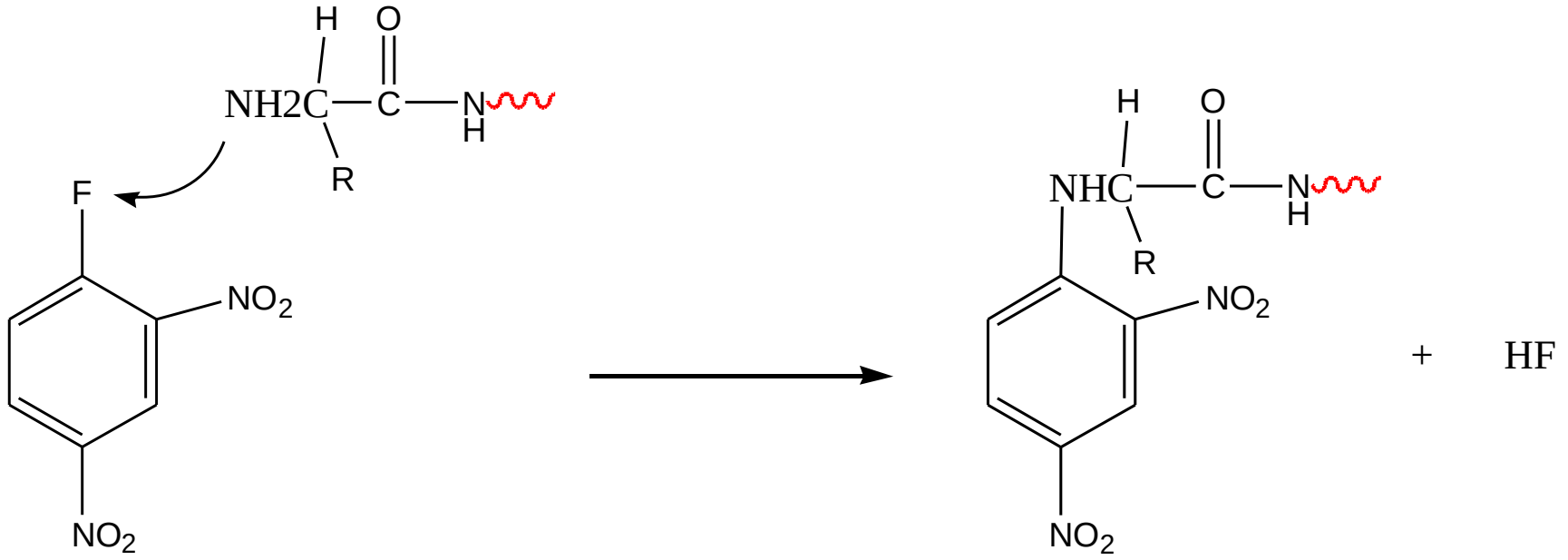
الترتيب المتعاقب لمتخلفات الاحماض الأمينية في بروتين ما amino acid sequence، يشير الى التركيب الأولي للبروتين وتحديد تسلسل الاحماض الامينية في بروتين ما، يتطلب اولاً تشخيص وتقدير متخلفات الاحماض الامينية وذلك بعد تحليل البروتين الى مكوناته من الاحماض الامينية، كما ذكر هذا سابقاً ثم تأتي الخطوة التالية لهذا الغرض وهي تجزئة سلسلة متعدد الببتيد الكاملة الى قطع أصغر.

والطريقة المختارة هي التحليل الانزيمي باستعمال انزيم **التربسين trypsin** المحلل للبروتين. وهذا الانزيم يحفز فقط تحلل الأواصر الببتيدية التي تشارك فيها متخلفات **اللايسين او الارجينين** بمجموعة كاربونيل. وبهذا يعرف عدد القطع الناتجة عن التحلل بوساطة التريبسين من العدد الكلي المتخلف اللايسين او الارجينين في السلسلة . ويمكن بعد ذلك فصل هذه القطع عن بعض بوساطة تقنية الهجرة الكهربائية (الاليكتروفوريسيس) مثلاً ، ثم تحلل كل من هذه القطع وتحدد محتوياتها من الاحماض الامينية.

ولغرض تمييز الترتيب الصحيح للقطع المختلفة لسلسة متعدد البيتيد الاصلية ، يؤخذ نموذج اخر من متعدد الببتيد ويفصل الى قطع أخرى وذلك باستعمال انزيمات محللة للبروتين اخرى مثل **كيموتريبسين** chymotrypsin الذي يحلل الأواصر البيبتيدية التي يكون فيها **الفينايل الانين والتربتوفان والتايروسين** مساهمة في مجموعة الكاربونيل. ثم يعقب هذا عملية تحليل (تشخيص) متخلفات النهاية الامينية والنهاية الكاربوكسيلية لسلسلة متعدد البيبتيد.

ان تحليل متخلف الحامض الاميني ذي النهاية الكاربوكسيلية يمكن ان يتم بوساطة الانزيم **كاربوكسي بيبتيديس carboxypeptidase** الذي يتخصص بفلق متخلف الحامض الاميني ذي النهاية الكاربوكسيلية عن البروتين. ثم يتم تشخيص هذا الحامض الاميني وبالامكان اعادة هذه العملية على ما تبقى من سلسلة متعدد البيبتيد لفصل الحامض الأميني المجاور وهكذا ... حتى يكمل فصل وتشخيص الاحماض الامينية المكونة لتلك السلسلة.

كما يمكن تحليل متخلف الحامض الاميني ذا النهاية الامينية باستخدام طريقة **سانكر Sanger** وهذه تشمل تفاعل مجموعة NH مع المركب ٤,٢ ثنائي نيتروفلورو بنزين.



ثم يعقب هذا تحلل للبروتين فينتج مزيجاً من الاحماض الامينية التي يكون احدها مرتبطاً بالمركب ثنائي نتروبنزين حيث يكون هو الحامض الاميني ذا النهاية الامينية في السلسلة البيبتيدية

البروتينات

تؤلف البروتينات حوالي ٥٠% من وزن الخلية الجافة ، وهي ذات اوزان جزيئية عالية. وتتصف البروتينات بعدم نفاذها خلال الاغشية النفوذية permeable membrane وتحوي الخلية حوالي ٣٠٠٠ نوع من البروتينات المختلفة.

والبروتينات تمثل صيغة المعلومات الوراثية المترجمة (اي الصيغة التي تعبر فيها العوامل الوراثية). والبروتينات عبارة عن بوليميرات Polymers جزيئية كبيرة تتألف من وحدات من الاحماض الامينية الفا المرتبطة مع بعض عبر الأواصر البيبيتدية.

وظائف البروتينات

١. كانزيمات:

تعمل بعض البروتينات كانزيمات ، تستخدم في تحفيز التفاعلات الحياتية المختلفة مثل أنزيم لاكتات ديها دروجينيس Lactate dehydrogenase .

٢. عناصر تركيبية Structural elements

تدخل بعض البروتينات في تركيب انسجة مختلفة كالبروتين الليفي المسمى كولاجين collagen الذي يدخل في تركيب الانسجة الرابطة connective tissues بصورة رئيسة ، وهناك إلالاستين elastin الذي يدخل في تركيب جدران الأوعية الدموية . ومن البروتينات التركيبية الأخرى، الكيراتين keratin الذي يدخل في تركيب الجلد والشعر والاظافر والريش.

٣. البروتينات الناقلة Transport proteins

هناك مركبات معينة يتم نقلها من نسيج الى آخر بواسطة بروتينات ناقلة . فعلى سبيل المثال يقوم البروتين هيموكلوبين ينقل الاوكسجين من الرئتين الى الانسجة المختلفة حيث يرتبط الاوكسجين بذرات الحديد الموجودة في مجاميع الهيم الاربعة في جزيئة الهيموكلوبين. ويتحد بروتين الالبومين الموجود في مصل الدم مع الاحماض الدهنية الحرة فيتم نقلها بين الانسجة الدهنية والاعضاء الأخرى في الفقريات، وكذلك يقوم الألبومين بنقل مواد مختلفة اخرى مثل الهورمونات والأدوية

٤. هورمونات

هناك عدد من الهورمونات لها تركيب بروتيني. وعلى العموم فالهورمونات هي مركبات تفرز من الغدد الصماء وتعمل على تنظيم العمليات الحياتية في الجسم. مثل هورمون الانسولين الذي يفرز من غدة البنكرياس ويقوم بتنظيم العمليات الحياتية لسكر الكلوكوز كما يحفز عملية هدم الدهون . وهورمون النمو Growth hormone الذي يفرز من الغدة النخامية الأمامية والذي ينظم عملية النمو والتكامل.

٥. عوامل دفاعية (وقائية) عوامل الحماية

إن لبعض البروتينات وظائف دفاعية أو وقائية ضد الفايروسات والبكتريا الضارة. وتسمى هذه البروتينات بالبروتينات الكلوبيولينات المناعية او الاجسام المضادة حيث تتحد هذه مع الاجسام الغريبة التي تتدخل الجسم والتي تدعى المستضدات وتعطلها عن عملها

٦. البروتينات الخازنة بروتينات التخزين

وهذا النوع من البروتينات يستخدم لخزن المواد الغذائية مثل زلال البيض وبروتين الكاسائين الموجود في الحليب وبروتينات البذور النباتية الغنية بالبروتين كالفاصوليا واللوبيا. وبروتين الفيريتين الموجود في الانسجة الحيوانية والغني بعنصر الحديد

٧. البروتينات المتقلصة

تعمل بعض البروتينات كعناصر اساسية في التقلص contraction والانبساط relaxation واهم هذه البروتينات المعروفة الأكتين Actin والما يوسين Myosin كعنصرين اساسيين للجهاز الحركي العضلي

٨. بروتينات لصيانة الضغط الأزموزي واس ايون الهيدروجين

تؤدي بروتينات بلازما الدم، وخصوصاً الألبومين، دوراً مهماً في المحافظة على الضغط الأزموزي للخلايا النسيجية . حيث ان الضغط الأوزموزي (التنافذي) للألبومين يجهز (يهيء) القوة الدافعة لعبور الماء والمواد الأخرى خلال الاغشية الخلوية ، وكذلك يعمل في المحافظة على ابقاء الرقم الهيدروجيني بالمعدل الطبيعي ٧.٤

٩. تعمل البروتينات تحت ظروف معينة مصدراً للطاقة

ترسيب البروتينات

١- ترسيب البروتينات بواسطة الأملاح

تترسب البروتينات الكروية من المحاليل المائية بوجود تراكيز عالية من الاملاح المتعادلة ، وتدعى هذه الظاهرة (الترسيب بالتمليح) salting out . وتكون املاح الأيونات الثنائية والثلاثية الشحنة أكثر فعالية في هذا المجال مقارنة باملاح الايونات احادية الشحنة. إن الاملاح التي تستعمل عادة لترتيب البروتينات هي كبريتات الأمونيوم ، كبريتات الصوديوم وكلوريد المغنيسيوم . فعند إضافة ملح مثل كبريتات الأمونيوم بتركيز عالٍ تتنافس أيونات الملح مع البروتينات على جزيئات الماء، يؤدي ذلك إلى تقليل كمية الماء المتاحة لترطيب البروتينات فعندها تترسب البروتينات.

٢- ترسيب البروتينات بمذيبات عضوية

تترسب البروتينات من المحاليل المائية بواسطة المذيبات العضوية مثل الأسيتون والكحول ، حيث تعمل كل من هذه المذيبات ناصر هيدروجيني مع جزيئات الماء ، مما يقلل التداخل الحاصل بين البروتين وجزيئات الماء (المذيب) ، ويؤدي بالتالي الى ترسيب البروتين . وكذلك يعزى ترسيب البروتين الى امتلاك كل من الاسيتون والكحول ثابت عازل كهربائي ciectric constant - قيمته أقل من ذلك الماء وبهذا فان اضافة كل منهما المحلول البروتيني الماني ، يؤدي إلى زيادة قوى التجاذب بين الشحنات المتعاكسة مما يقلل درجة تأين مجاميع R للبروتين، وهذا يسبب تجمع (تكتل) جزيئات البروتين وترسيه.

٣- ترسيب البروتينات بالمواد الكاشفة الحامضية

وتترسب البروتينات بالمواد الكاشفة الحامضية acidic reagents، مثل حامض ثلاثي كلورو اسيتيك. وهذا يعود لتكوين ملح غير قابل للذوبان من جراء تفاعل البروتينات التي تحمل الشحنة الموجبة مع الجذور السالبة للحامض المضاف.

٤- ترسيب البروتينات عند نقطة التعادل الكهربائي

تترسب البروتينات عند نقطة التعادل الكهربائي isoelectric pointالعائدة لها . حيث ان البروتين عند هذه النقطة هذه الـ(pH) يكون متعادل كهربائياً ، اي ان محصلة الشحنات الكهربائية التي يحملها تساوي صفراً

الطرائق الشائعة للتقدير الكمي للبروتينات

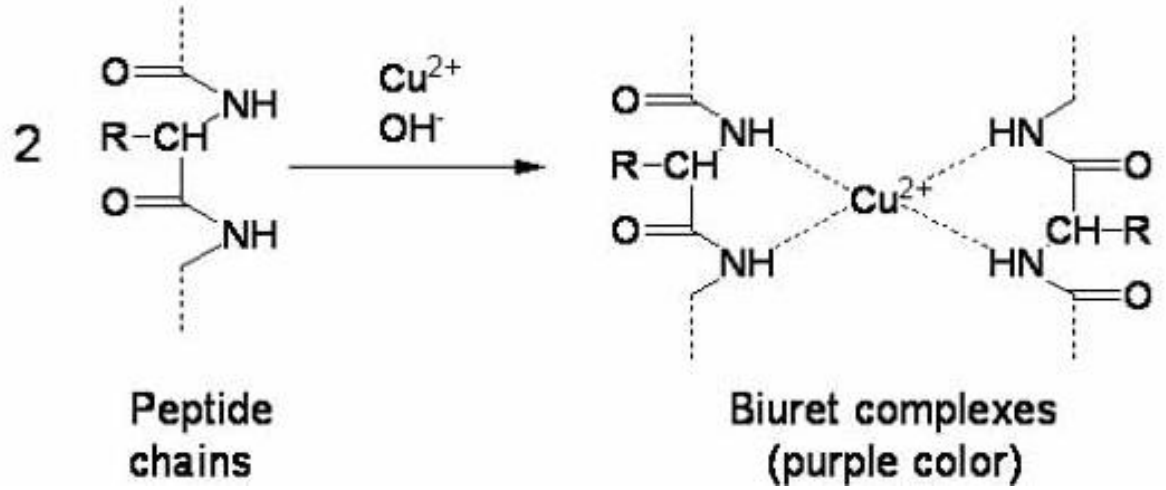
١- طريقة كلدال

٢- طريقة المطياف الضوئي Warburg- christian method

ان وحدات **التايروسين والتريبتوفان** للبروتين تمتص الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي ٢٧٥ و ٢٨٠ نانوميتر على التوالي . وحيث ان مستوى هذين الحامضيين الامينيين عموما يكون ثابتاً نسبياً في العديد من البروتينات . بهذا فإن تركيز البروتين (في المحاليل النقية) يتناسب عموماً مع مقدار الامتصاصية عند الطول الموجي ٢٨٠ nm ، وبالامكان استرجاع عينة البروتين بعد التقدير. وتستخدم هذه الطريقة غالباً لمتابعة مراحل تنقية البروتين.

٣- كشف بايوريت Biuret test

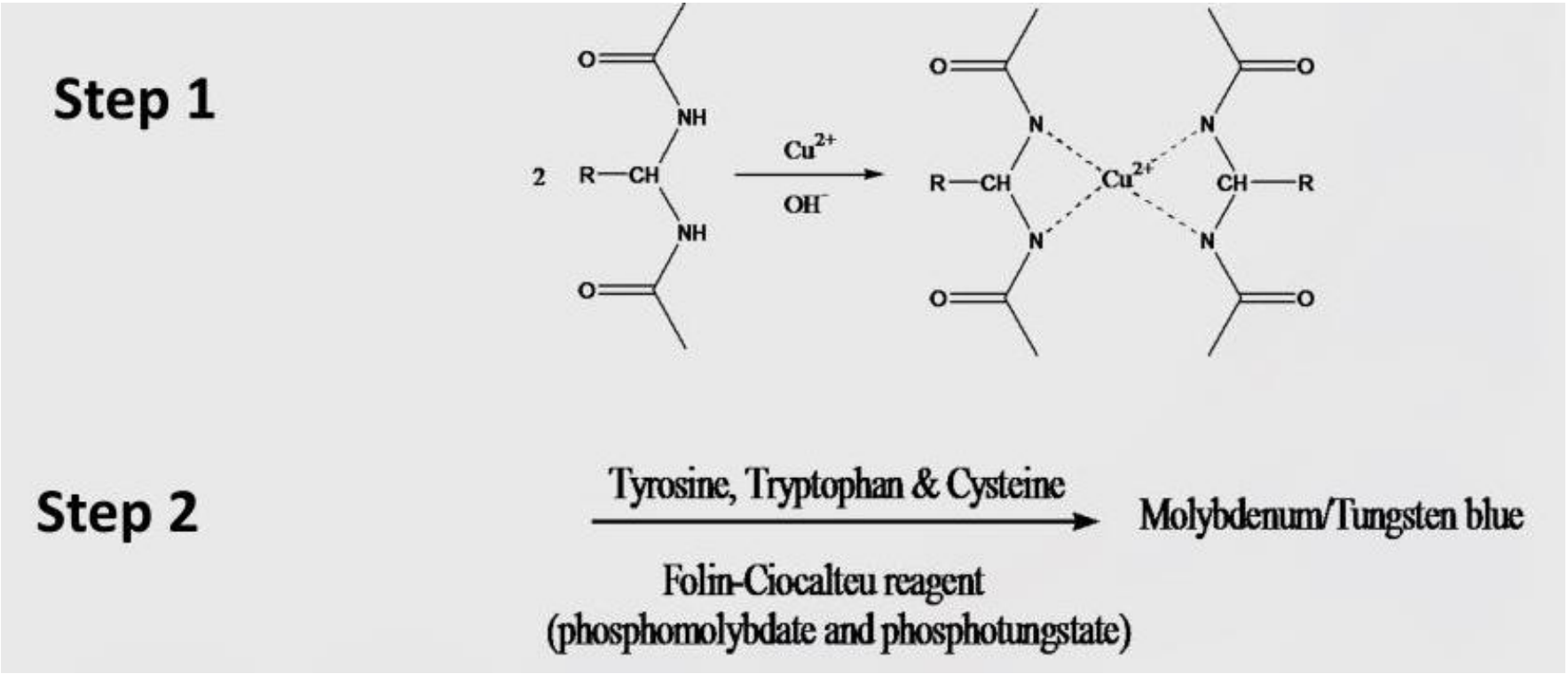
يعطي تفاعل بايوريت لوناً بنفسجياً - ورديا مع المركبات التي تحوي أواصر ببتيدية . غير أنه لا يعطي كشفاً موجباً مع الأحماض الأمينية الحرة. وتتضمن هذه الطريقة اتحاد البروتين او المركبات الحاوية على اثنين او اكثر من الأواصر الببتيدية مع محلول كبريتات النحاس بوجود قاعدة قوية ، فينتج محلول بنفسجي يمتص الضوء عند طول موجي يقارب **٥٤٠-٥٦٠ نانومتر**.



إن هذه الطريقة ليست حساسة جداً حيث يمكن قياس عينة بروتين لحد ٠.٢٥ ملغم فقط ، كما ان وجود المحلول المنظم تريز tris في العينة ، يتداخل مع هذه الطريقة .

٤- طريقة فولن - سيوكالتو (لوري) Folin-Ciocalteu (Lowry)

وهي طريقة لونية لتقدير كمية البروتين، ينتج عنها لون ازرق يمتص طيف الاشعة عند طول موجي قدره ٧٥٠ نانوميتر. إن اللون المتكون ناتج عن كل من تفاعل بايوريت و اختزال محلول فوسفوليبديك - فوسفوتنكستيك من قبل وحدات التايروسين والتريبتوفان الموجودة في البروتين. وتعتبر هذه الطريقة حساسة حيث يمكن قياس عينة بروتين الحد ٠.٥ مايكروغرام (كحد ادنى). ويتداخل وجود المحلول المنظم تريز والمركبات المختزلة مع هذه الطريقة .



تصنيف البروتينات Classification of Proteins

تصنف البروتينات على الأغلب نسبة إلى تركيبها الكيمياوي ، وبناءاً على هذا ، يوجد نوعان رئيسان للبروتينات وهي : البروتينات البسيطة Simple Protein وهذه صنفت أنواعها على اساس قابلية ذوبانها ، والبروتينات المقترنة (المترابطة) Conjugated Protein صنفت انواعها على أساس نوع المجموعات غير البروتينية المرتبطة بها .s

البروتينات البسيطة (المتجانسة):

هي البروتينات التي بتحليلها لا تنتج الا الاحماض الأمينية او مشتقاتها، وتختلف فيها بينها باختلاف خواصها الفيزياوية والكيمياوية وذلك تبعاً لنوع مكوناتها من الأحماض الامينية.

١. البروتامينات Protamins

هي بروتينات ذات وزن جزيئي منخفض حوالي (٥٠٠٠) وهي تحتوي بشكل رئيسي على الأحماض الأمينية القاعدية وخصوصا الارجينين ولا تحتوي على كل من التايروسين والتربتوفان. ويمكن ان تتحلل هذه البروتينات بواسطة التربسين وليس البيسين. وتتحد مع المجموعة السالبة للأحماض النووية مكونة النيوكليوبروتينات Nucleoproteins. ومن الأمثلة على هذا النوع من البروتينات السالمين salmine في سمك السالمون

٢ ـ الهستونات Histones

هي بروتينات قاعدية أيضاً لكنها تحتوي على أحماض أمينية قاعدية أقل مما هو موجود في البروتومينات وهي لا تحتوي على التريبتوفان. وتحتوي على كمية قليلة نسبياً من الأحماض الأمينية المحتوية على الكبريت. وتذوب في الماء ولا تتخثر بالحرارة ، وتتحلل بالتربيسين والبيبسين. وهي كالبروتامينات تتحد مع الأحماض النووية ولها دور منظم في مجال الوراثة ، مثال ، الهستونات النووية nucleohistones في نوى الخلايا .

٣. الألبومينات Albumins

هذه البروتينات تذوب في الماء وفي المحاليل الملحية المخففة وكذلك في كبريتات الأمونيا المشبعة بدرجة ٥٠% ولكنها تترسب في محاليل كبريتات الأمونيا المشبعة . كما تتغير طبيعتها بالتخثر تحت تأثير الحرارة (كالبيض المسلوق). وهي تحتوي على الأحماض الأمينية الشائعة وبنسبة قليلة على الكلايسين. وقد تكون الألبومينات مرتبطة مع السكريات ولكن بكميات قليلة جداً. ومن الأمثلة على الألبومينات، أليومين المصل ، في الحليب، واليومين البيض

٤. الكلوبيولينات

ومن الأمثلة على الكلوبيولينات هي ألفا وبينا وكاما كلوبيولين وكلوبيولين مصل الدم وما يوسين العضلات وكلوبيولين البيض.

٥. البرولامينات : مثال عليها كليادين الموجود في الحنطة و زاين الموجود في الذرة

٦. **الكلوتيلينات:** مثال عليها كلوتينين الحنطة

٧. السكليروبروتينات Scleroproteins

وهي البروتينات ذات التركيب النسيجي (الليفي) التي تقاوم كثيراً المذيبات كما تقاوم الأنزيمات المحللة للبروتين. ومن أهم أنواع هذه البروتينات :

١. الكيراتين Keratin

عبارة عن بروتينات تكون النسيج الواقي بشكل رئيسي (كالشعر والأظافر) الذي يقاوم بدرجة كبيرة فعل الأنزيمات ، ولا يذوب في المذيبات الاعتيادية ، وهذه البروتينات غنية بالسايستيين والأحماض الأمينية القاعدية .

٢. الكولاجين Collagen

وهو بروتين يتميز بمقاومة قوة الشد العالية، وهو من المكونات الرئيسة للأنسجة الرابطة (الضامة) والغضاريف وغيرها، ويشكل نسبة ٣٠% من البروتين الكلي للحيوان. وتتميز باحتوائها على كميات كبيرة من الكلايسين والألانين وبشكل خاص البرولين والهيدروكسي برولين. وهذا الحامض الأخير هو ما يميز الكولاجين حتى ان تقدير الكولاجين يعد عمليا تقديراً للهيدروكسي برولين

٣. الإلاستين Elastin

عبارة عن بروتين خيطي مرن يوجد في تركيب جدران الأوعية الدموية والاوتار العضلية ويوجد في الأنسجة الرابطة Connective tissues وخواصه تتشابه مع خواص الكولاجين .

البروتينات المقترنة (المرتبطة) Conjugated proteins

وتدعى أيضاً البروتينات غير المتجانسة وهي بروتينات تتألف من سلسلة أو سلاسل متعدد الببيتيد المرتبطة مع مركبات ذات طبيعة كيمياوية مختلفة كالسكريات واللبيدات والمعادن وغيرها . وهي تشمل الأنواع الآتية:

أ - الفوسفو بروتينات

ب- البروتينات السكرية

ج - البروتينات المعدنية

د- الكرومو بروتينات Chromoproteins

تتألف هذه من بروتين مرتبط مع جزء غير بروتيني ذي طبيعة مختلفة بمنح البروتين المرتبط بها لوناً خاصاً، وتتضمن هذه المجموعة من البروتينات الأنواع الآتية :

١- الصبغات المختصة بالتنفس، مثل الهيموكلوبين والهيموسيانين وما يوكلوبين العضلات

٢- مكونات السلاسل الناقلة للالكترونات في الميتوكوندريا مثل السايتوكرومات والفلافوبروتينات

٣- الصبغات البصرية، مثل الرودويسين والايود وبسين

هـ - الليبوبروتينات (البروتينات الدهنية) Lipoproteins

وهي بروتينات غير متجانسة تتحد فيها المبيدات مع الجزء البروتيني. وتوجد في الأغشية الخلوية وفي بعض التميرويسات viruses (واشح) الحيوانية .كما توجد بشكل خاص بمصل الدم. وهي تمثل المادة الفسيولوجية لنقل اللبيدات.

و- البروتينات النووية Nucleoproteins

تنتج البروتينات النووية من اتحاد الأحماض النووية مع البروتامينات والهيستونات وأحياناً مع البروتينات غير القاعدية . وتوجد في الخلايا حقيقية النواة) . Eukaryoticفي النواة والسايتوبلازم) وكذلك توجد في الخلايا بدائية النواة Prokaryoticوفي الروائح او الفيروسات.

وتقسم البروتينات الى صنفين رئيسيين، إعتمادا على صفاتها الفيزياوية وهما:

١- البروتينات الليفية Fibrous Proteins

وهي بروتينات عديمة الذوبان في الماء وتقاوم عمل الأنزيمات المحللة للبروتينات Proteolytic enzyme، ولها وظائف تركيبية أو وظائف وقائية . عموماً يوجد ثلاثة أنواع من البروتينات الليفية وهي : الكيراتين الكولاجين، الإلاستين (وقد تم توضيحها) .

٢- البروتينات الكروية Globular protein

تذوب البروتينات الكروية في الماء والمحاليل الملحية، وتمتاز بكثرة التفافها مكونة أشكالاً كروية. وتشمل البروتينات الكروية الأنزيمات ، بروتينات الدم كالألبومين والكلوبيولين والهيموكلوبين، وكذلك البروتينات التي تكون معقدات مع الأحماض النووية كالهستون والبروتامين .

بروتينات البلازما Plasma Proteins

يحتوي بلازما دم الانسان السليم على سنة اجزاء من البروتينات ، امكن فصلها بوساطة الهجرة الكهربائية وهي:

١. **الالبومين :** يتم بناؤه في الكبد ومن وظائفه المهمة هي المحافظة على استقرارية الضغط الأزموزي للدم ، كما يقوم بنقل الاحماض الدهنية الحرة والبليروبين والكالسيوم وبعض الهورمونات كالالدوستيرون ، وعليه فهو يلعب دوراً كبيراً في أيض هذه المركبات.

٢- **الفا-١-كلوبيولين α-1-Globulin :** يقوم بنقل الستيرويدات والدهون والدهون الفوسفورية. ويشمل اللايبوبروتين lipoprotein والترانسكورتين transcortin

٣- **الفا-٢-كلوبيولين α-2-Globulin :** يننقل الدهون والهيموكلوبين المتكسر من كريات الدم الحمراء ، كما يقوم بنقل النحاس والمشاركة في تكوين الخثرة الدموية. ويشمل اللابيوبروتين lipoprotein والسيروبلازمين والبروثرومبين.

٤- **بيتا-كلوبيولين ß-Globulin :** يشمل بيتا لايپوپروتين و ترانسفرين ransferrin يقوم الترانسفرين بنقل الحديد .

٥- **كاما - كلوبيولين Y-Globulin** : يدعى بالاجسام المضادة (المستضدات Antibodies) يقوم بوظائف دفاعية حيث يتحد مع البكتريا معادلاً بذلك سموم البكتريا التي تعمل في هذه الحالة مكونة الضد 6. antigens

٦- **الفايبرينوجين Fibrinogen :** ان هذا البروتين موجود في البلازما وليس في مصل الدم ويقوم بعملية تخثر الدم حيث يتحول الفايبرينوجين الى الفايبرين بفعل انزيم الترومبين.

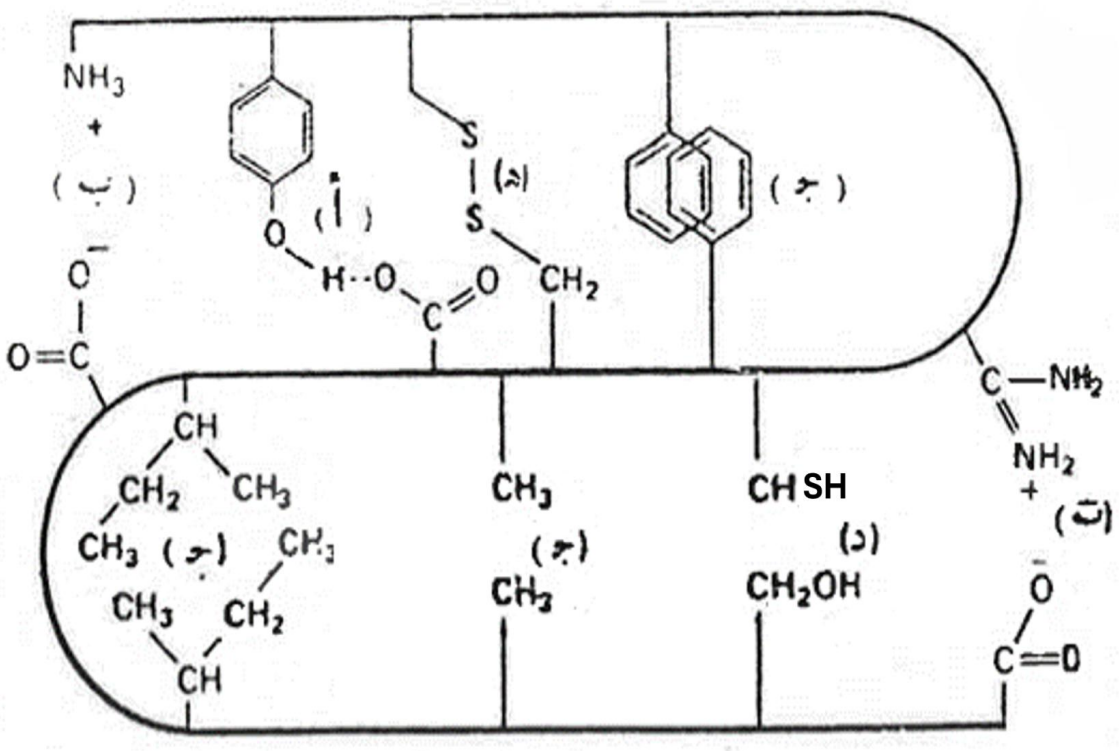
التنظيمات البنائية (التركيبية) للبروتين Orders of protein structure

تملك جزيئات البروتين تنظيمات تركيبية معينة. وهذه تشمل التركيب الأولي ، الثانوي ، الثلاثي والرباعي.

ويشير التركيب الأولي للبروتين إلى تعاقب الأحماض الأمينية في السلسلة أو السلاسل البيبتيدية التي تؤلف جزىء البروتين ويبين التركيب الثانوي والثلاثي والرابعي للبروتين كيفية إنتظام الهيئة البنائية أو التركيب المجساسي للسلاسل البيبتيدية المكونة الجزيئات البروتين الطبيعية .

إن العمود الفقري للسلاسل البيبتيدية يتضمن الأواصر البيبتيدية المستوية التي تملك بعضاً من خواص الاصرة المزدوجة ، فليس هناك دوران لكل من الـ C- وال N- حول الاصرة البيبتيدية C-N وإن ميزة عدم الدوران هذه تمنح السلسلة البيبتيدية تركيباً صلداً لحد ما مما له أهمية بالتالي في إستقرار التنظيمات البنائية للبروتين.

ومن المعلوم ان معظم البروتينات إما أن تكون ذو طبيعة (هيئة) ليفية فتسمى بالبروتينات الليفية او تكون ذات هيئة كروية فيطلق عليها بالبروتينات الكروية .وإن التركيب الثانوي والثلاثي الذي يتمثل في إنتظام مثل هذه الهيئات البنائية الخاصة للبروتينات الطبيعية يعود ثباته لوجود أواصر مختلفة عديدة تعمل على المحافظة على الشكل (البناء) الكلي المعقد للبروتينات ، وتشمل هذه الأواصر الأنواع الآتية:



أ- الأواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين مجموعات -CO ومجموعات -NH للمتخلفات المكونة للعمود الفقري للسلسلة البيبتيدية، وكذلك الأواصر الهيدروجينية الموجودة بين الـ HO لمتخلفات التايروسين والـ COO^- لمتخلفات الأسبارتيك والكلوتاميك

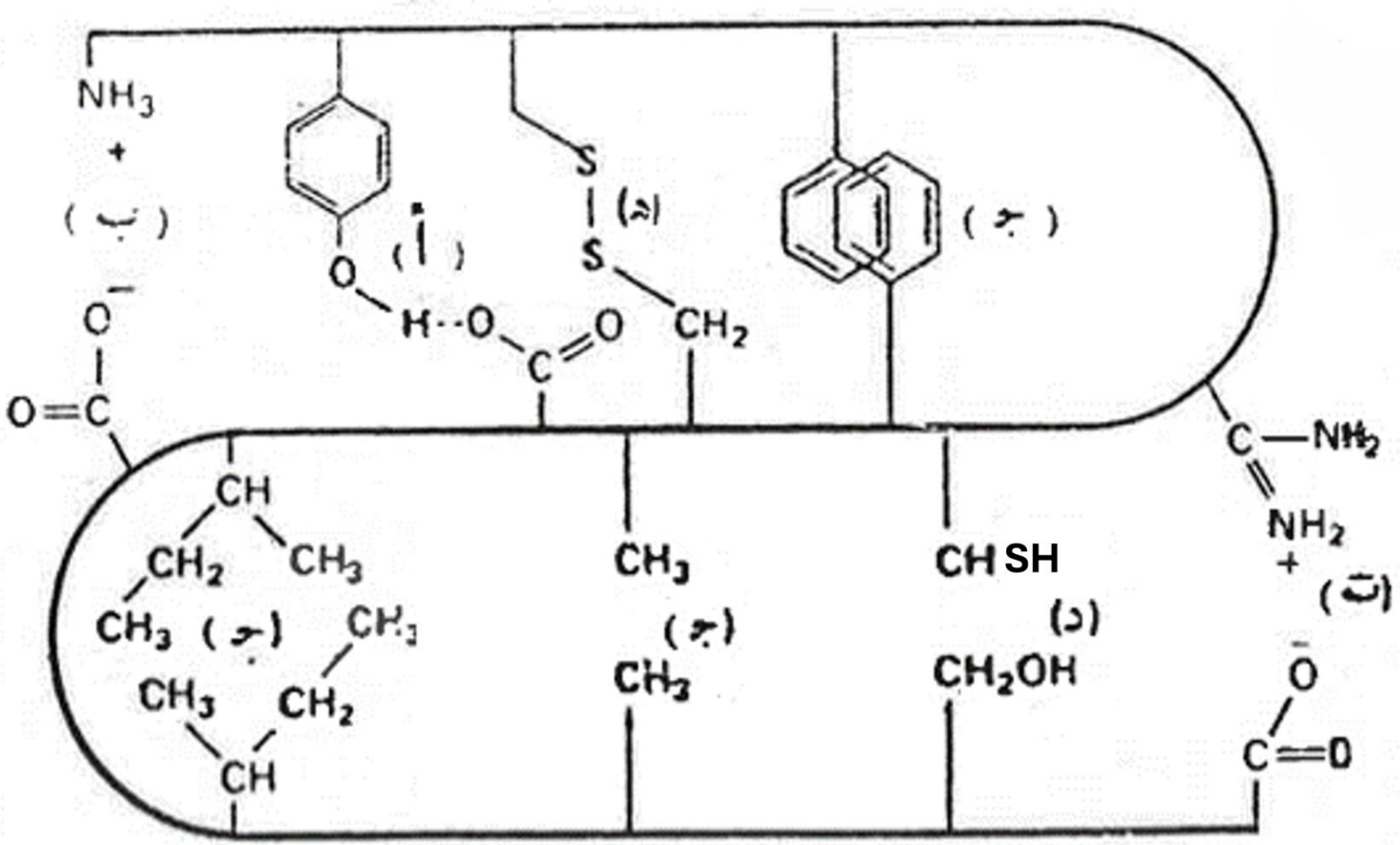
ب- الأواصر الأيونية التي تتكون من متخلفات الأحماض الأمينية القاعدية مثل ، اللايسين والأرجينين وبين متخلفات الأحماض الأمينية الحامضية ، مثل حامض الأسبارتيك والكلوتاميك .

ج- التداخل بين المجموعات الكارهة للماء hydrophobic groups وهذاينتج عن تجاذب المجموعات R الأليفاتية أو الأروماتية لمتخالفات الأحماض الأمينية مع بعض .

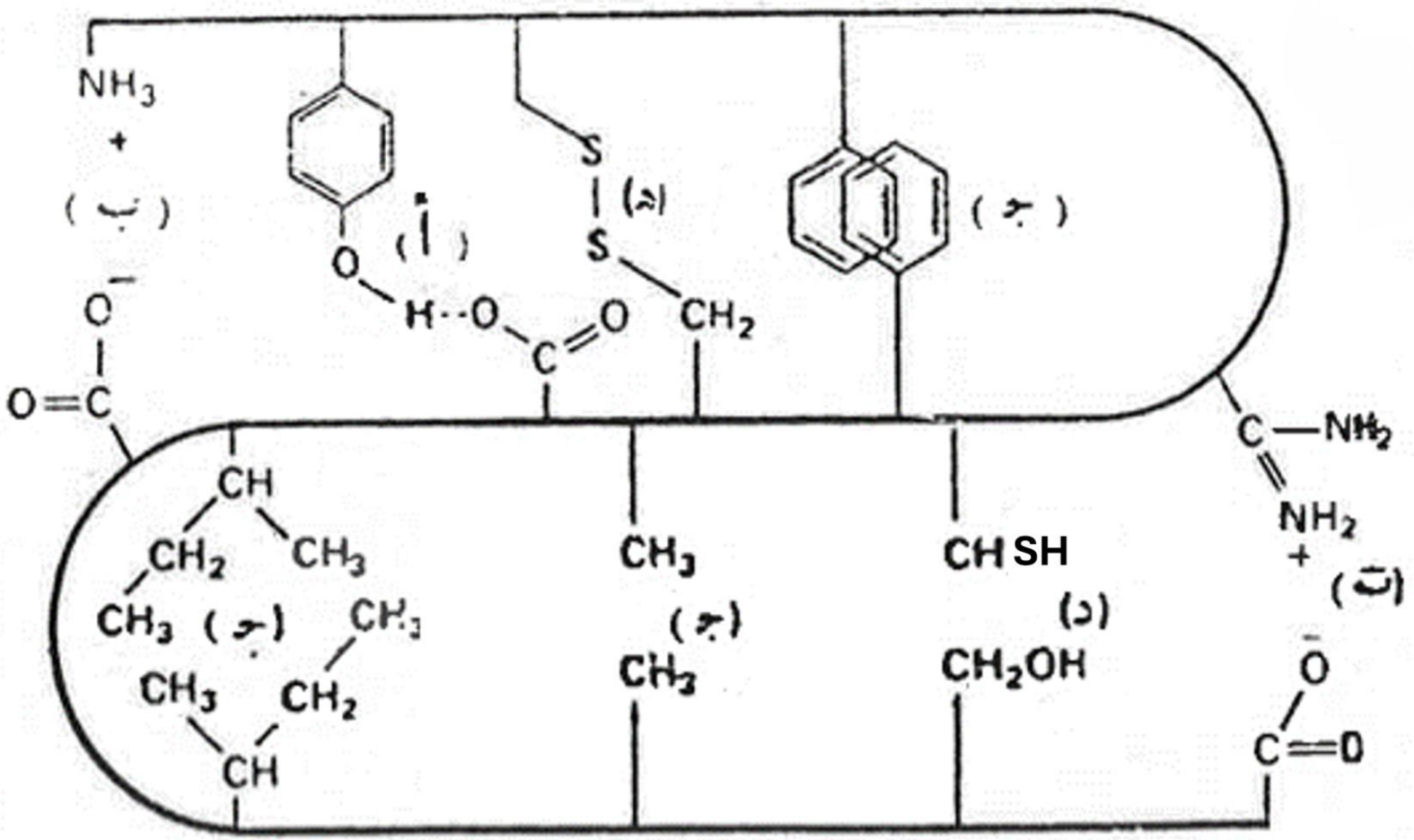
د- التداخل الناتج عن تجاذب قطب ثنائي dipole مع قطب ثنائي آخر لمتخلفات الأحماض الأمينية (قوى فاند فالز Van der Walls forces)

هـ- الأواصر ثنائية الكبريت المتكونة بين كل وحدتين من متخلفات السايستيين للسلسلة البيبتيدية .

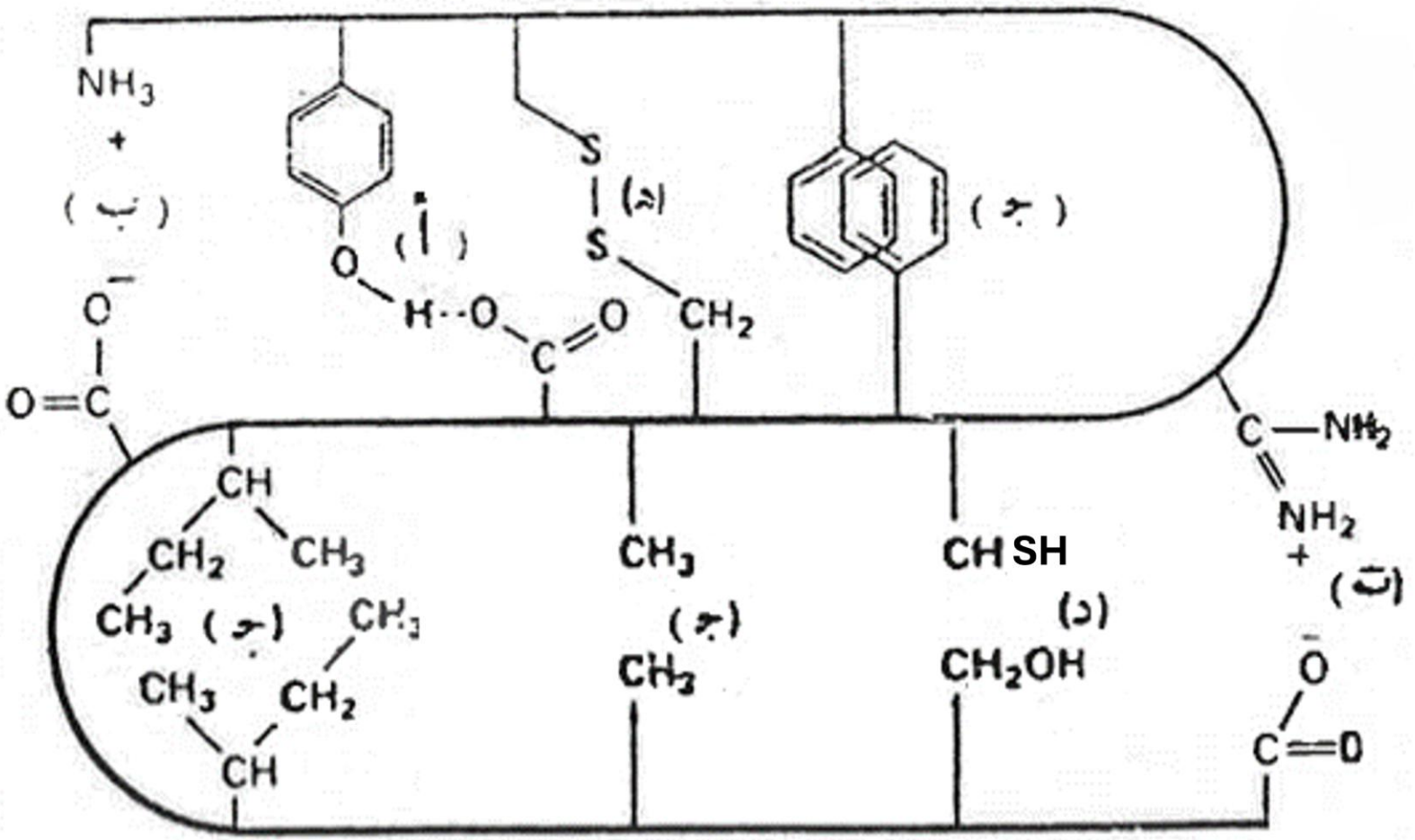
أ- الأواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين مجموعات -CO ومجموعات -NH للمتخلفات المكونة للعمود الفقري للسلسلة البيبتيدية، وكذلك الأواصر الهيدروجينية الموجودة بين الـ HO لمتخلفات التايروسين والـ COO^- لمتخلفات الأسبارتيك والكلوتاميك



ب- الأواصر الأيونية التي تتكون من متخلفات الأحماض الأمينية القاعدية مثل ، اللايسين والأرجينين وبين متخلفات الأحماض الأمينية الحامضية ، مثل حامض الأسبارتيك والكلوتاميك .

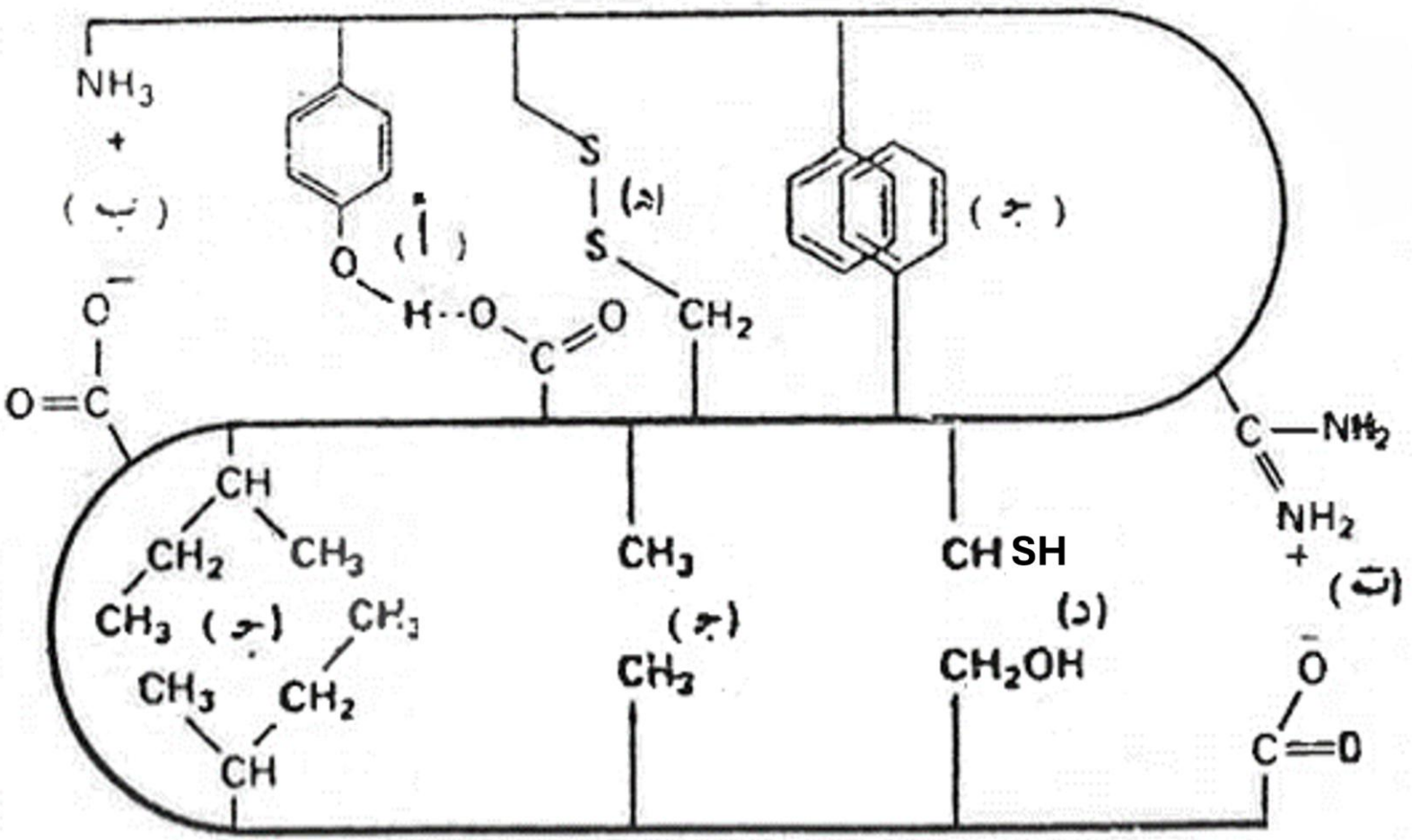


ج- التداخل بين المجموعات الكارهة للماء hydrophobic groups وهذاينتج عن تجاذب المجموعات R الأليفاتية أو الأروماتية لمتخالفات الأحماض الأمينية مع بعض .



د- التداخل الناتج عن تجاذب قطب ثنائي dipole مع قطب ثنائي آخر لمتخلفات الأحماض الأمينية (قوى فاند فالز Van der Walls forces)

هـ- الأواصر ثنائية الكبريت المتكونة بين كل وحدتين من متخلفات السايستيين للسلسلة البيبتيدية .



التركيب الأولي للبروتين

يشير التركيب الأولي للبروتين الى عدد ونوعية وتسلسل (انتظام) متخلفات الاحماض الأمينية في السلسلة أو السلاسل البيبتيدية التي تؤلف ذلك البروتين

مثال على ذلك الانسولين كأول بروتين تم ايجاد تركيبه الأولي عام ١٩٥٠يتطابق تسلسل متخلفات الاحماض الامينية (التركيب الأولي) الجزيئات اي بروتين معين في النوع الواحد من الكائنات الحية.

وقد تحدث احيانا طفرات جينية وراثية في الجين المعين لذلك البروتين مما يؤدي الى احلال وحدات حامض اميني او عدة احماض امينية محل احماض امينية اخرى . كما موضح في هيموكلوبين المصابين بفقر الدم المنجلي (الهلال) الذي يختلف عن الهيموكلوبين الطبيعي بوحدة حامض اميني واحد فقط . فمتخلف حامض الكلوتاميك في الموقع ٦ من سلسلة - للهيموكلوبين الطبيعي على محله وحدة الفالين في هيموكلوبين فقرالدم المنجلي. ان احلال الحامض الاميني يكون نتيجة طفرة في جزيئة الحامض النووي DNA التي تشفر سلسلة الهيموكلوبين (الفصل (١٤).

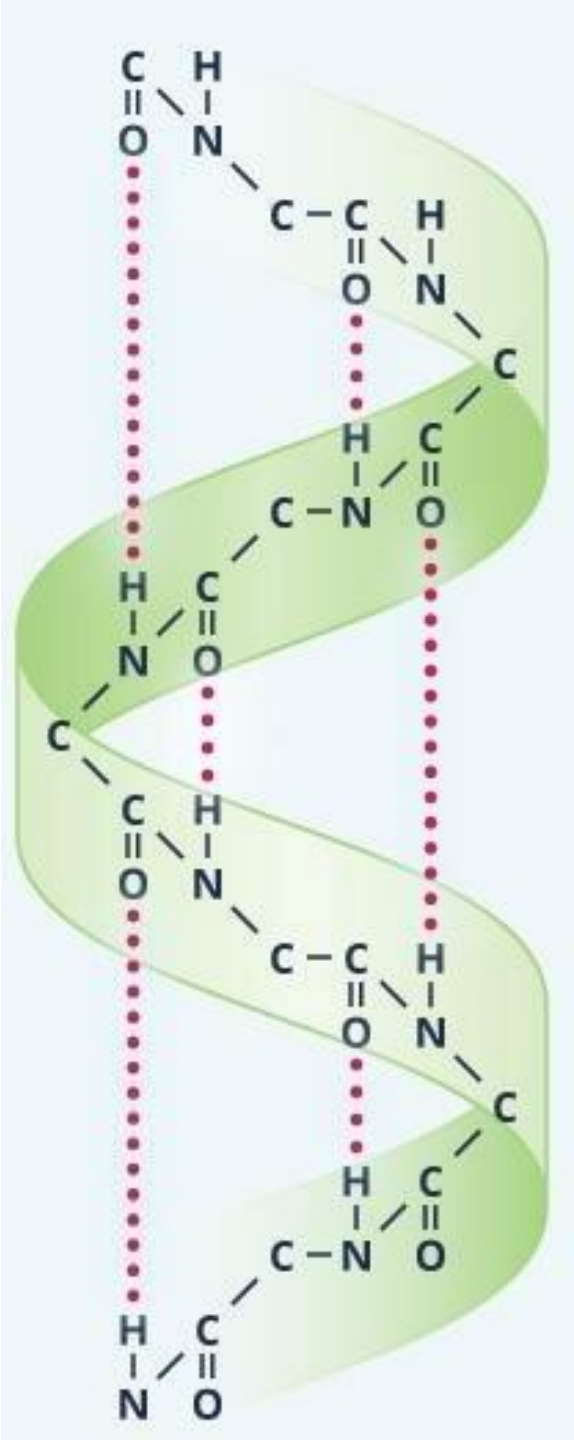
التركيب الثانوي للبروتين Secondary structure of protein

يشير التركيب الثانوي للبروتين الى كيفية التواء او انطواء سلسلة او سلاسل بيبتيدية للبروتينات في الحالة الطبيعية على امتداد محور واحد . ان هذا الالتواء بالشكل المحدد تقوم على تثبيته الأواصر الهيدروجينية والأواصر ثنائية الكبريت ، ولقد تم الحصول على معلومات دقيقة بهذا الصدد بوساطة تحليل حيود الاشعة السينية لعدد من البروتينات التي اجريت في البداية من قبل العالمين بولينك Pauling وكوري Corey . وتبين ان التركيب الثانوي للبروتين يتمثل بالانواع المختلفة الآتية :

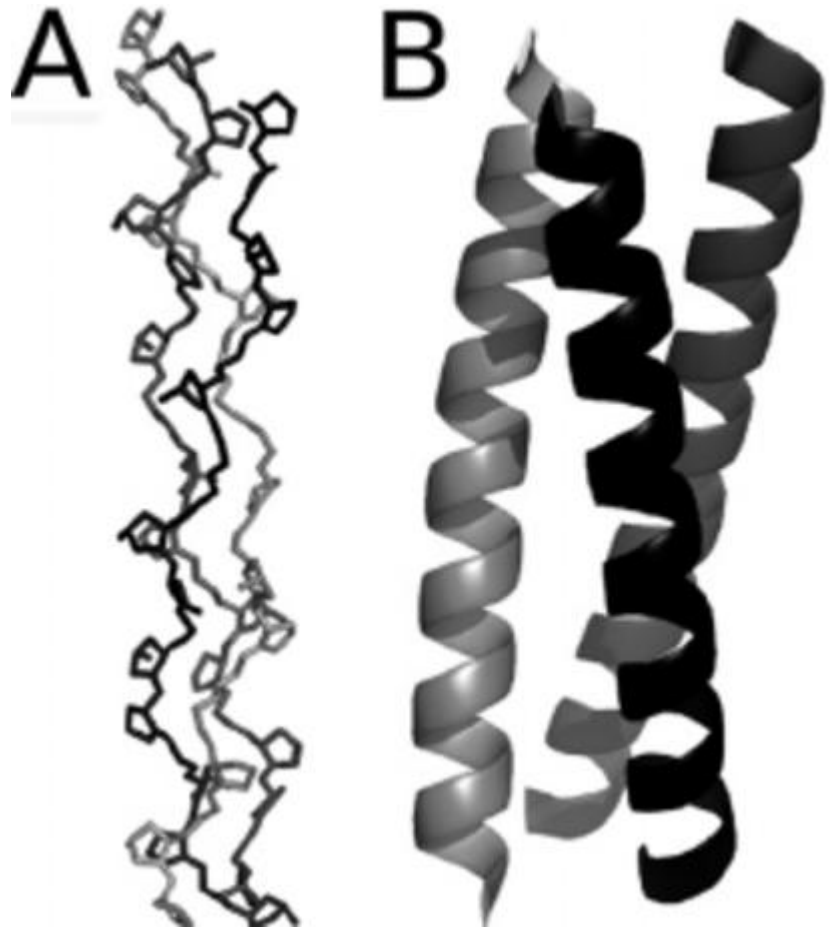
١ - المنحني الحلزوني – ألفا α-Helix

يتمثل هذا التركيب الثانوي في بناء البروتين **الليفي** المسمى **الفا - كيراتين** α- keratin حيث تكون السلاسل البيبتيدية ملتوية بانتظام لتشكل تركيباً يسمى بالمنحني الحلزوني الفا. ويوجد حوالي **٣.٦** وحدة حامض اميني لكل دورة من المنحني الحلزوني. وتمتد مجموعات R الى الخارج من العمود الفقرى لسلسلة متعدد الببتيد الملتوية مما يجنب التراحم الكتلى فيما بينها ويجعل شكل المنحنى ثابتا. ويكون المنحني الحلزوني الفا ثابت الشكل ايضا وذلك لان الحلقات المتعاقبة ترتبط مع بعضها بوساطة أواصر هيدروجينية ، وتمنح تداخلات فاندر فالس ثباتية إضافية لهذا البناء، وكذلك فإن هذا التركيب يسمح الحصول زوايا الأواصر على قيمها الطبيعية.

ويوجد البناء الحلزوني الأمفيباثيكي amphipathic مستقطب - غير مستقطب حيث يكون للحلزون واجهة مستقطبة وأخرى غير مستقطية. وذلك نتيجة إنتظام عدداً من متخلفات الأحماض الأمينية المستقطبة وغير المستقطبة بترتيب خاص . إن البروتينات التي تمتلك بناء حلزوني أمفيباثيكي ، تكون في بيئة تمتلك خواص مستقطبة وغير مستقطبة. ومن الأمثلة على البروتينات الحلزونية الامفيبائيكية هي بعض الهورمونات البيبتيدية والمستضدات والبروتين السكري في الراشح (فايروس) الذي يسبب العوز المناعي immunodeficiency للإنسان .



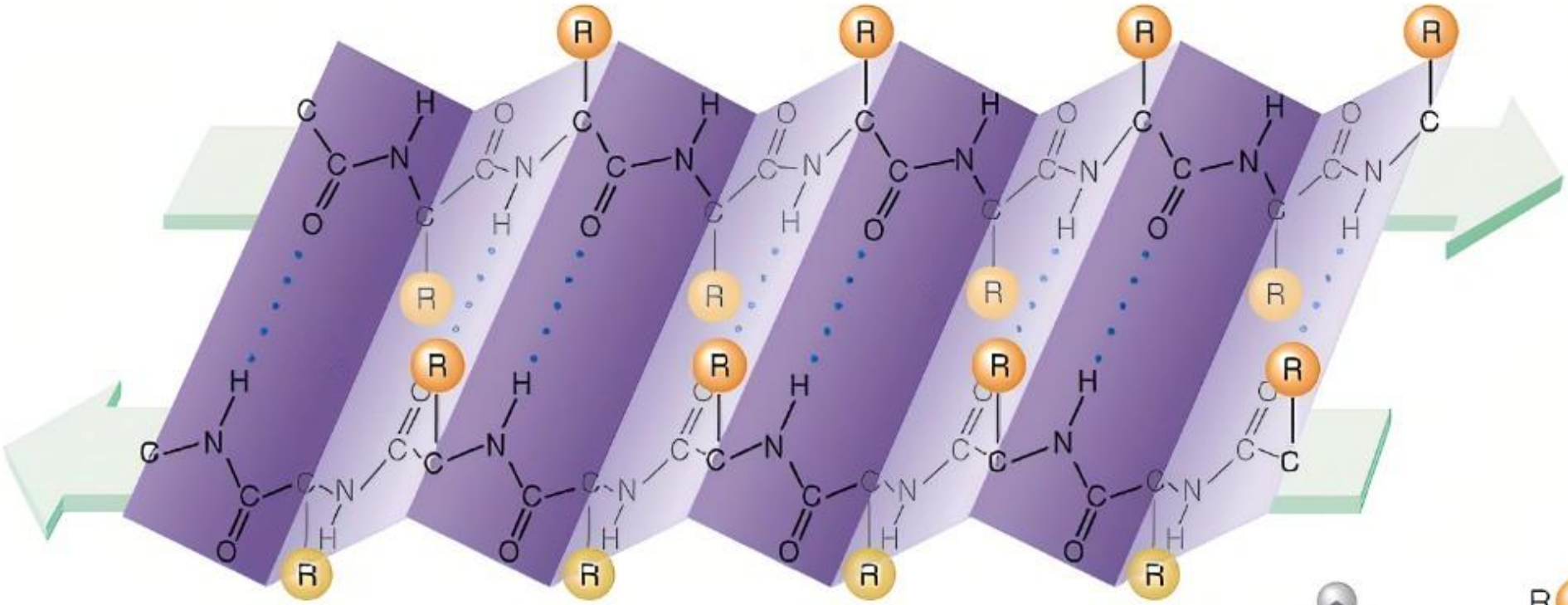
يمكن أن تتشابك حلزونان أو أكثر من ألفا لتشكيل هياكل مستقرة للغاية، ويطلق عليها بنية حلزونية لولبية للألفا Coiled-coil structure of Alpha helix.



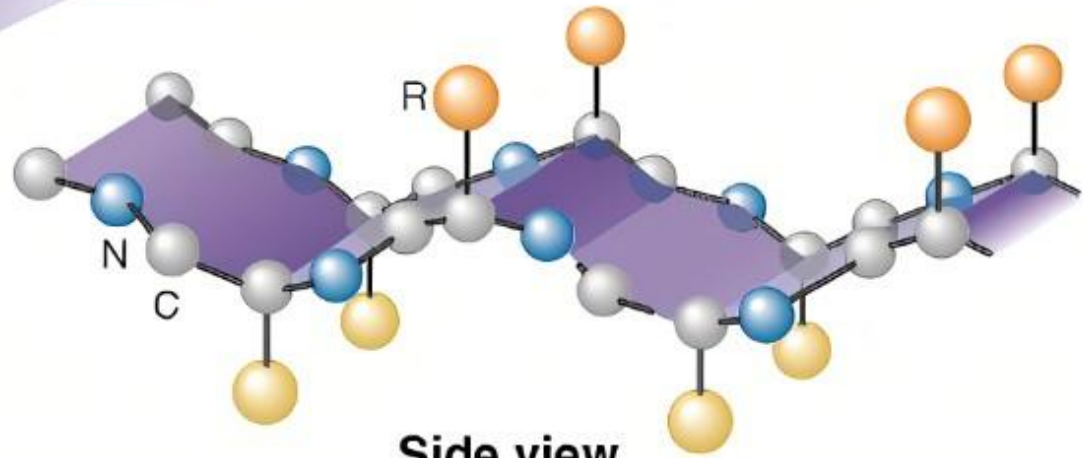
٢- الصفائح المسطحة-بيتا (السطح المطوي) Pleated sheet

يتمثل هذا التركيب الثانوي في بناء البروتين **الليفي** المسمى **فيبروين** fibroin (البروتين الليفي للحرير). حيث تمتد سلاسل متعدد الببيتيد بأبعاد متعرجة تشبه الزكزاك يعبر عنها بأشكال - بيتا ß-configuration وتترتب مثل هذه السلاسل موازية بعضها البعض ولكن باتجاهات متعاكسة.

وترتبط السلاسل المتجاورة بوساطة الأواصر الهيدروجينية ، وفي هذا النوع يمكن الوصول الى أعلى درجة من التاصر الهيدروجيني بدون حصول زيادة في التزاحم الكتلي للمجموعات R لمتخلفات الأحماض الأمينية المكونة للسلاسل .



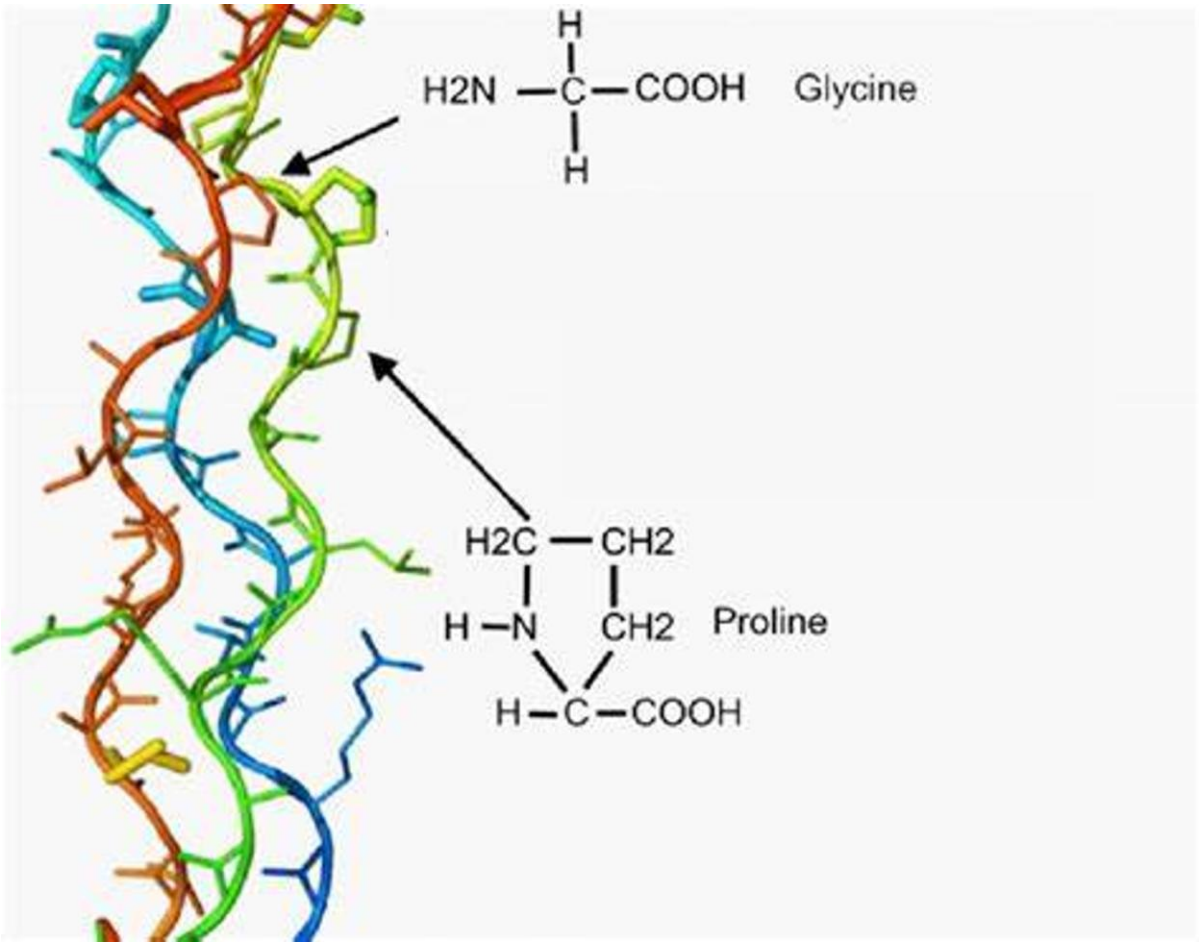
Face view

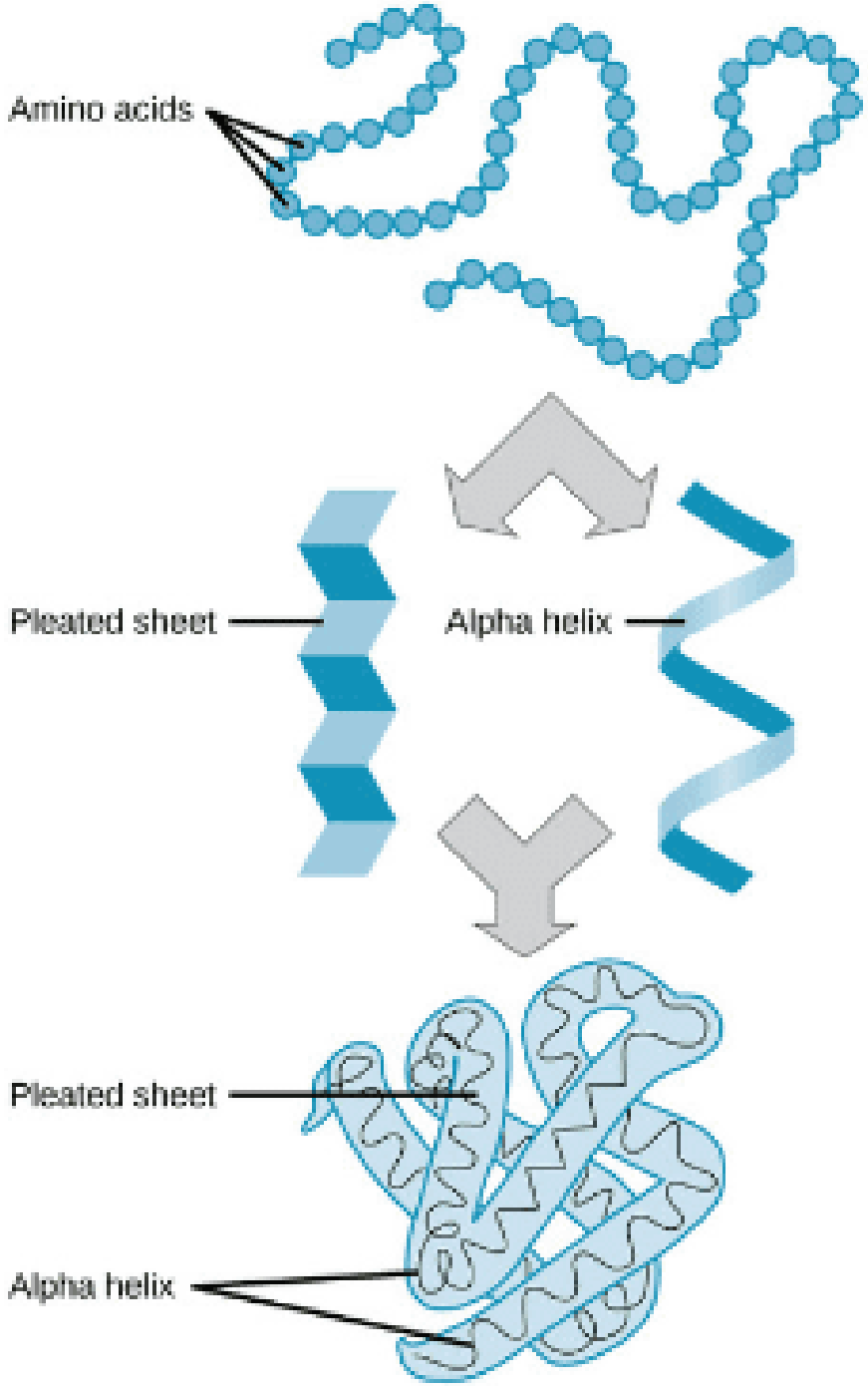


Side view

٣- منحني حلزوني ثلاثي Triple helix

ويتمثل هذا التركيب الثنائي في بناء البروتين **الليفي الكولاجين** . حيث تلتوي ثلاث سلاسل من متعدد البيتيد حول بعضها لتكون منحنياً حلزونياً ثلاثياً . ويكون هذا النوع غنياً بوحدات **البرولين والكلايسين** التي تقع في مناطق الانحناءات



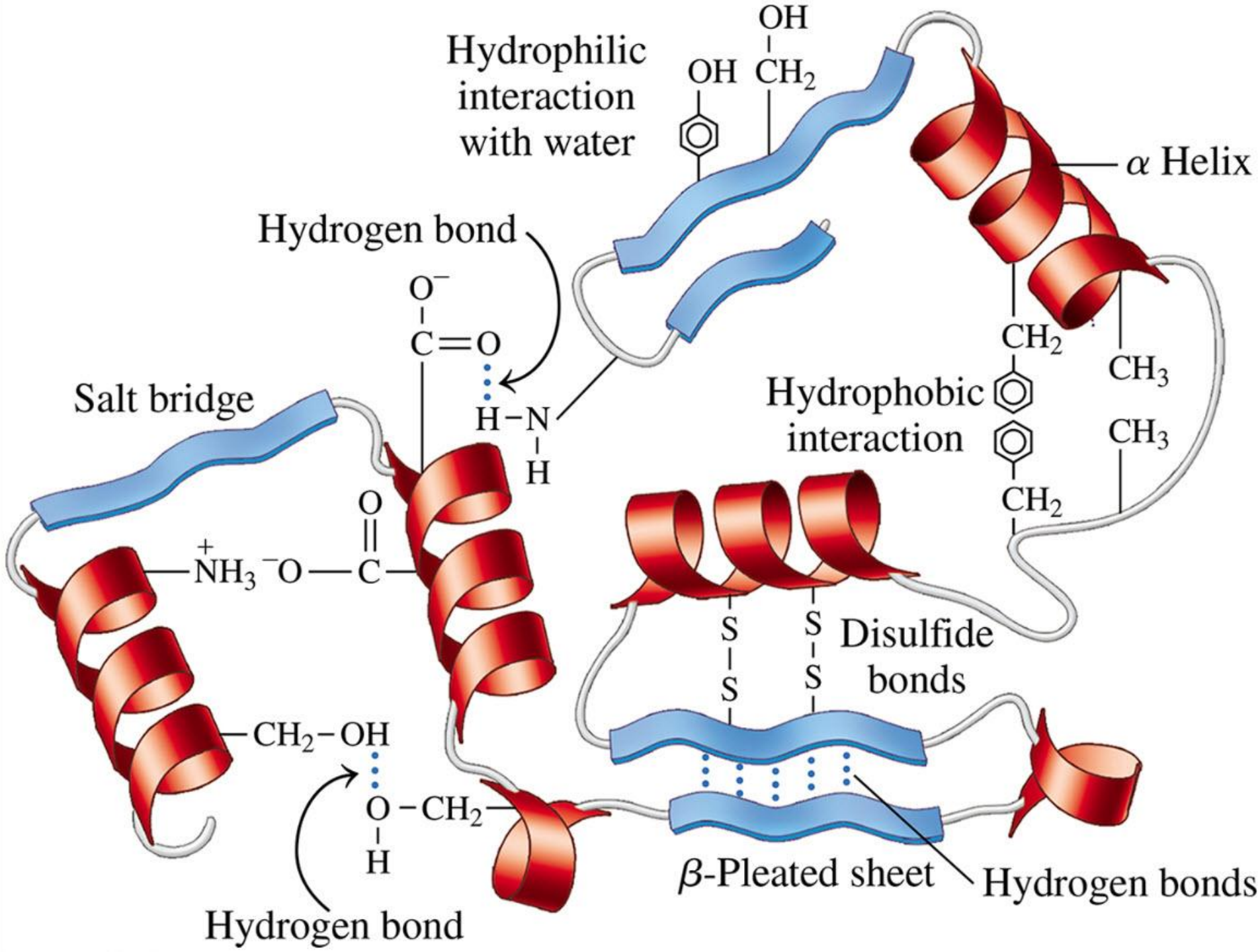


التركيب الثلاثي للبروتين Tertiary structure of protein

يحدد التركيب الثلاثي ، الشكل الكلي لجزئي البروتين **الكروي**. أي أن هذا البناء يمثل الشكل الثلاثي الأبعاد للبروتين الكروي. ويتوضح فيه التفافات أخرى إضافة لالتفافات البناء الثانوي وعلى امتداد أكثر من محور واحد لسلسلة متعدد الببيتيد المكونة الجزي البروتين. وثبات هذا البناء يعود لوجود **الأواصر المختلفة العديدة** التي تعمل على المحافظة على هذا الشكل الكلي المعقد الثابت.

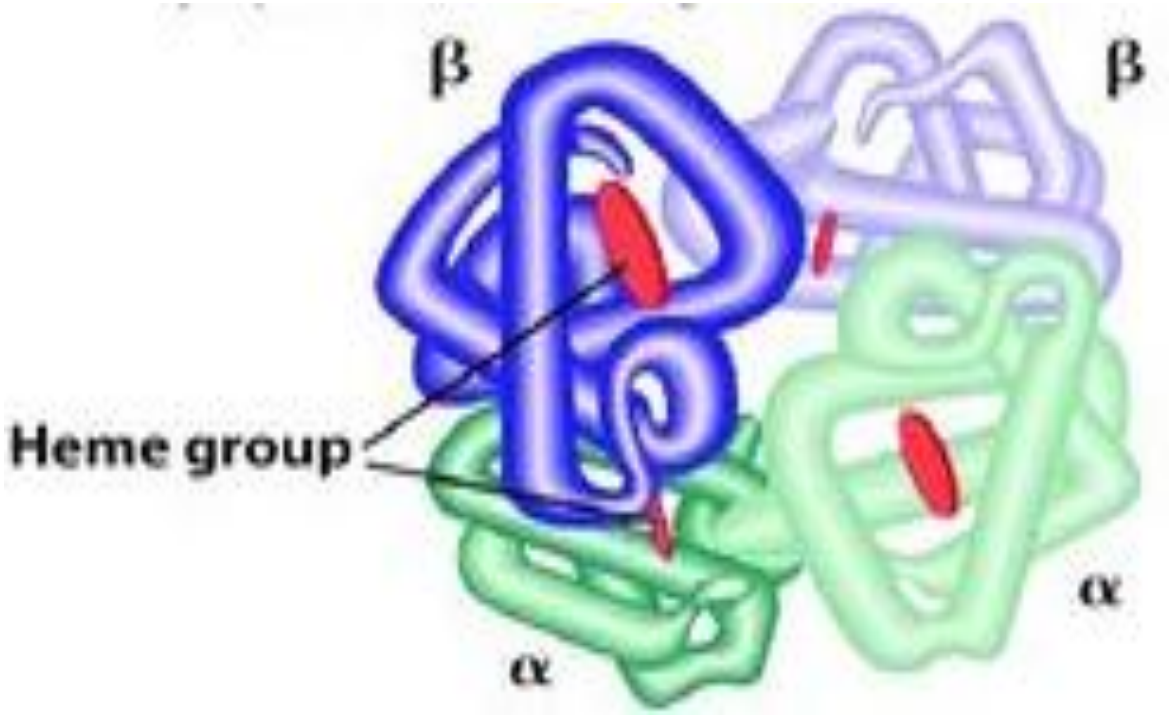
وفي سلسلة متعدد الببيتيد للبروتين الكروي ، تقع معظم الاحماض الأمينية ذات المجموعات R القطبية أو المحبة للماء على السطح الخارجي للبروتينات الكروية، وتكون معرضة للماء بينما تختفي معظم الأحماض الأمينية ذات المجموعات R غير القطبية عن التعرض للماء.

وقد بينت نتائج التحليلات بوساطة حيود الأشعة السينية التركيب الثلاثي البروتينات كروية مثل **انزيم ريبونيوكليس** في البنكرياس


Hydrophilic interaction with water
OH
OH
CH2
α Helix
Hydrogen bond
O−
C=O
H−N
H
Salt bridge
CH2
CH3
Hydrophobic interaction
CH3
CH2
O
+NH3 −O—C
S
S
S
S
Disulfide bonds
CH2−OH
O−CH2
H
β-Pleated sheet
Hydrogen bonds
Hydrogen bond

التركيب الرباعي للبروتين Quaternary structure of protein

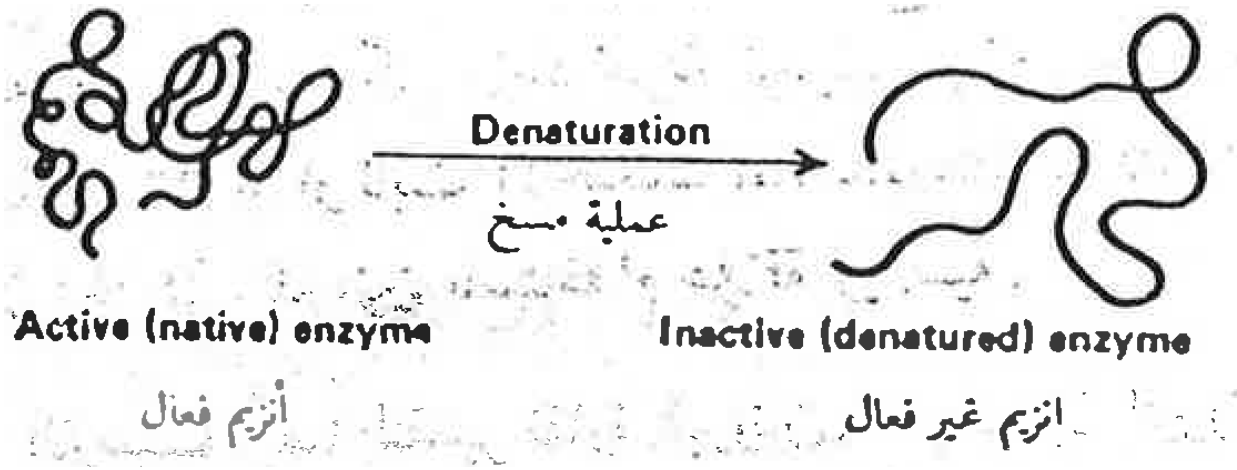
يشير هذا التركيب (البناء) الى الطريقة التي تنتظم (تتلاءم) فيها عدد من السلاسل البيبتيدية مع بعض لتكوين وحدة كبيرة كجزىء بروتيني معين. فجزيئة **الهيموكلوبين** مثلا تتألف من أربعة سلاسل بيبتيدية، إثنان منها ألفا - واثنان منها بيتا - هذه السلاسل الأربعة تنتظم مع بعضها بطريقة معينة لتكون جزيئاً كاملاً للهيموكلوبين. وتتشابه سلاسل الفا - وبيتا في تركيبها الثلاثي ومتكونة من اطوال متشابهة من المنحني الحلزوني مع انحناءات بالدرجة نفسها والاتجاه نفسه



فقدان الصفات الطبيعية (المسخ) للبروتين Denaturation of protein

تحدث ظاهرة فقدان البروتين لصفاته الطبيعية نتيجة تغير في التركيب (الهيئة البنائية) الذي يؤدي بالتالي الى تغير الصفات الفيزياوية لذلك البروتين. فمحاليل البروتين تفقد.صفاتها الطبيعية على بقائها في محيط قاعدي أو حامضي أو عند المزج والتحريك المستمر، التسخين أو وجود مواد مختزلة ، منظفات ، مذيبات عضوية أو التعريض للاشعة السينية والضوء وللموجات فوق الصوتية.

هذه المسببات تؤدي الى فقدان البروتين لوظيفته الحيوية ، والتقليل من قابلية ذوبانه عند نقطة التعادل الكهربائي . وهذه المسببات تعمل على فصم الأواصر الهيدروجينية والعديد من أواصر الكبريت الثنائية مما تجعل ذلك البروتين يفقد بناءه الطبيعي وفعاليته الحيوية ويسهل ترسيبه.



وقد تسترجع بعض البروتينات بناءها الطبيعي وبالتالي فعاليتها الحيوية بعد زوال المؤثر وتحت ظروف معينة كما هو الحال في الهيموكلوبين. إن عملية المسخ ليس لها تأثير على الأواصر البيبتيدية للبروتين.

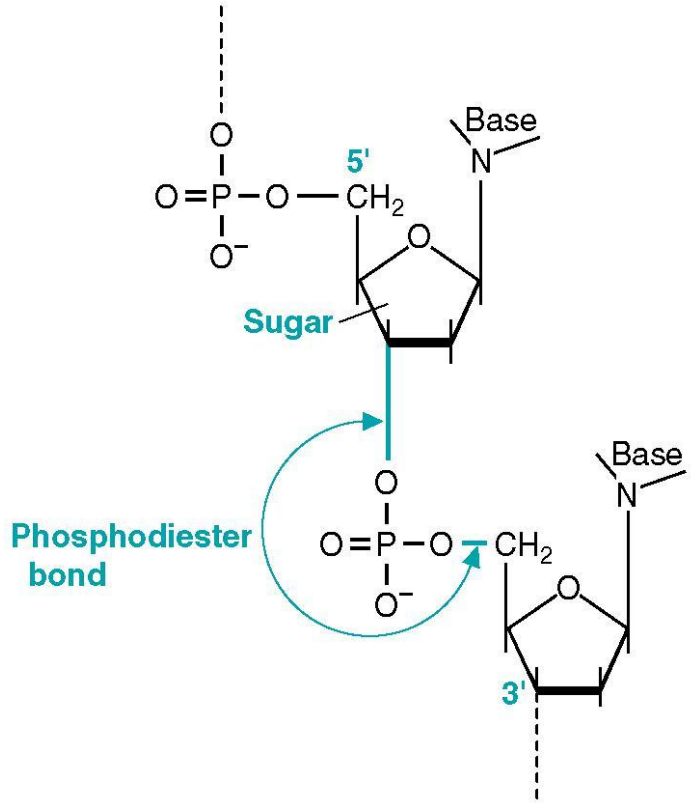
الهيموكلوبين هو مثال جيد على البروتين الذي يمكنه استعادة بنيته الطبيعية بعد التمسخ. عند تعرض الهيموكلوبين لظروف غير طبيعية مثل الحرارة أو تغيير الحموضة، قد يفقد بنيته الرباعية، مما يؤدي إلى فقدان وظيفته في نقل الأوكسجين. لكن عند إزالة المؤثرات المسببة لهذه التغيرات (مثل تبريد المحلول أو استعادة الحموضة إلى مستواها الطبيعي)، قد يستعيد الهيموكلوبين بنيته الطبيعية ويعود إلى قدرته الأصلية على حمل الأوكسجين.

Nucleotides النيوكليوتيدات

النيوكليوتيدات الوحدات التركيبية المتكررة للأحماض النووية. وتشارك في نقا المعلومات الوراثية .كذلك فان للنيوكليوتيدات وظائف اخرى في الخلية خاصة في عمليات نقل الطاقة (مثل ATPأو GTP) وبالاضافة الى كونها تشكل الجزء الكثير من المرافقات الانزيمية coenzymes.

مكونات النيوكليوتيدات:

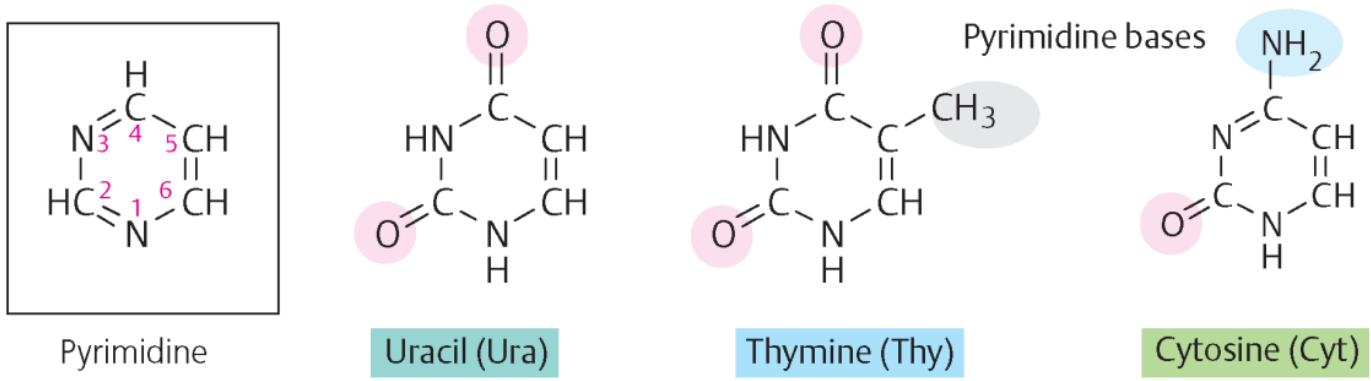
تحتوي النيوكليوتيدات على ثلاثة مركبات متميزة وهي: قاعدة نيتروجينية وسكر خماسي الكاربون و حامض الفوسفوريك



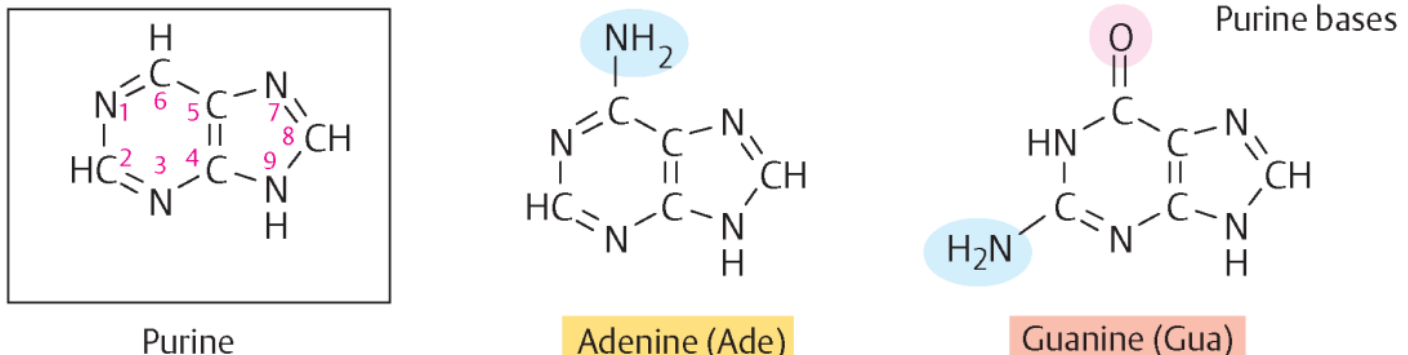
قواعد البيورينات والبيريميدين purines and pyrimidines bases

تحتوي النيوكليوتيدات المشتقة من الاحماض النووية صنفين من القواعد النيتروجينية من مشتقات نوعين من المركبات الحلقية غير المتجانسة وهما البيورينات والبيريميدينات

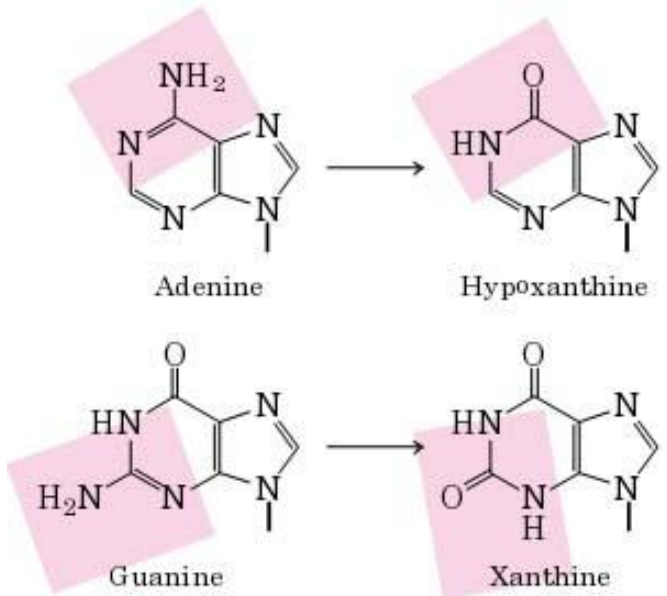
ان قواعد البايرمدينات الرئيسية الموجودة في الاحماض النووية هي: السايتوسين Cytosine (C) واليوراسيل Uracil (U) والثايمين Thymine (T) والتي لها التركيب التالي :



أما القواعد البيورينية الرئيسية في الاحماض النووية فهي الادينين Adenine (A) والكوانين Guanine (G)



وهناك اثنان من قواعد البيورين الاخرى هما الزانثين Xanthin والهايبوزانثين Hypoxanthineينتجان من العمليات الايضية للادنين والكوانين



وفي النباتات توجد مجموعة من قواعد البيورينات التي تحوي على معوضات مثيل، ويملك العديد من هذه القواعد خصائص عقاقيرية. مثلا القهوة تحتوي على القاعدة البيورينية كافين Caffeine (trimethylxanthine)

مركبات البنتوز

تحتوي النيوكليوتيدات على نوعين من سكر البنتوز أو سكر خماسي الكاربون. فالنيوكليوتيدات المشتقة من الحامض النووي الاوكسجيني تحتوي على سكر الرايبوز D-Ribose أما النيوكليوتيدات المشتقة من الحامض النووي اللااوكسجيني فتحتوي على السكر الديوكسي رايبوز (الرايبوز اللاأوكسجيني) 2-deoxy-D-Ribose.

النيوكليوسيدات

تتكون النيوكليوسيدات من قاعدة بيرميدينية أو بيورينية متصلة بواسطة رابطة كلايكوسيدية N-glycosidic bond مع سكر يكون غالبا β-D-رايبوز أو ٢-ديوكسي β-D-رايبوز. وتكون الرابطة بين ذرة النيتروجين رقم ١ للبيرميدين (أو ذرة النيتروجين رقم ٩ للبيورين) مع ذرة الكاربون رقم ١ لسكر البنتوز والذي يكون بشكل الفورانوز. وهناك سلسلتان من النيوكليوسيدات وهما النيوكليوسيدات الرايبوزية (شكل ٥.١)، والنيوكليوسيدات الديوكسي الرايبوزية .

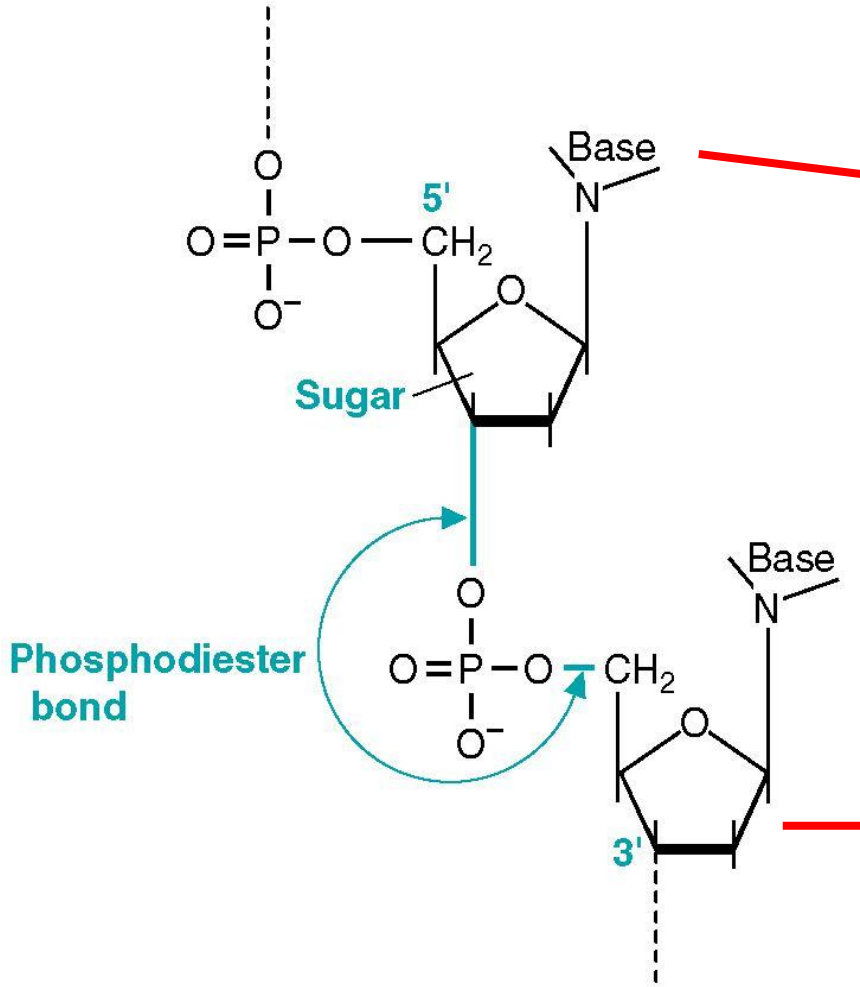
النيوكليوتيدات

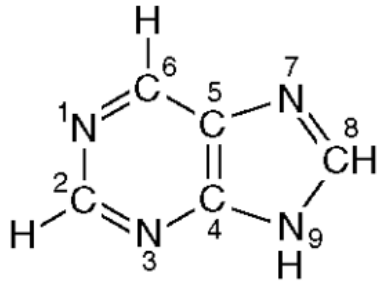
النيوكليوتيد هو نيوكليوسيد مفسفر. حيث تكون فيه مجموعة OH أو أكثر للسكر الرايبوزي أو الديوكسي رايبوز متأسترة مع حامض الفوسفوريك. وفي النيوكليوتيدات تستعمل الالرقام ١، ٢، ٣.....الخ للاشارة الى ذرات السكر وذلك تمييزا عن ذرات القاعدة النيتروجينية الموجودة في الجزيء نفسه. ويرتبط حامض الفوسفوريك باصرة أسترية مع الرايبوز في الموقع الـ ٢′OH أو ٣′ أو ٥′ ، كما يرتبط مع ٢-ديوكسي رايبوز في موقع الـ ٣′OH أو ٥′. وتوجد النيوكليوتيدات المفسفرة مع OH السكر عند الموقع ٥′ منتشرة في الطبيعة أكثر من غيرها.ان جميع النيوكليوتيدات المحتوية على فوسفات هي احماض وذلك لاحتواء حامض الفوسفوريك على بروتونين قوي التفكك. الشكل(٨.١) اسماء وتراكيب النيوكليوتيدات والتي توجد غالبا في الاحماض النووية.

مكونات النيوكليوتيدات:

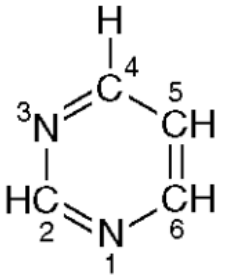
تحتوي النيوكليوتيدات على ثلاثة مركبات متميزة وهي: قاعدة نيتروجينية وسكر خماسي الكاربون و حامض الفوسفوريك

ان جميع النيوكليوتيدات المحتوية على فوسفات هي احماض، وذلك بسبب قابلية التاين لذرات الهيدروجين لمجموعة الفوسات الموجودة

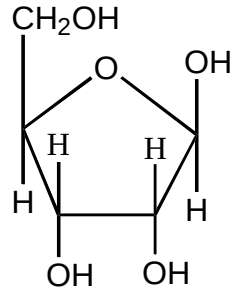




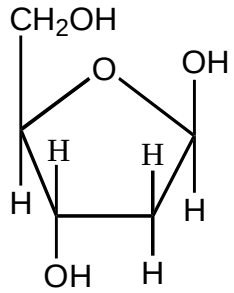
Purine



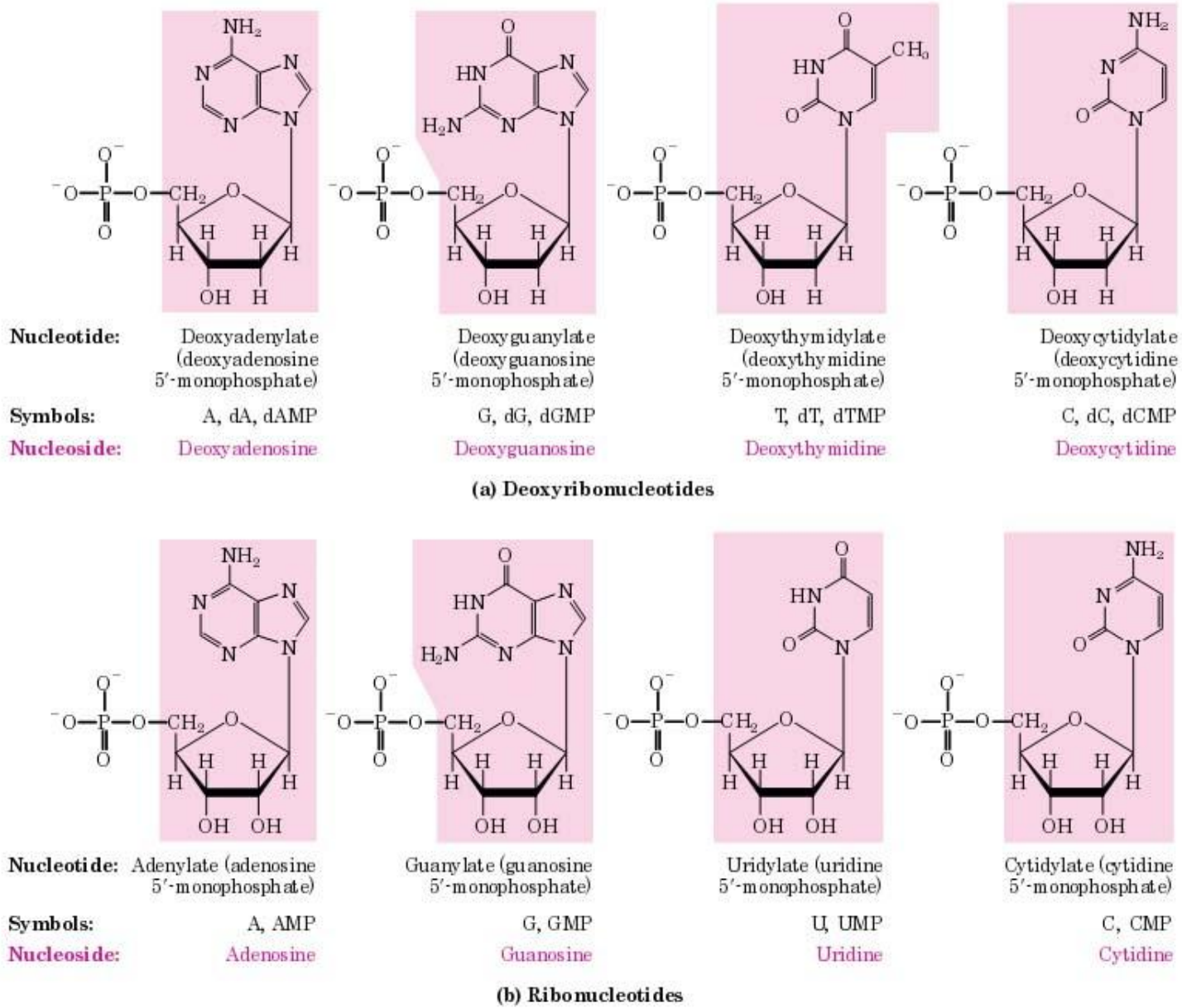
Pyrimidine



D-Ribose

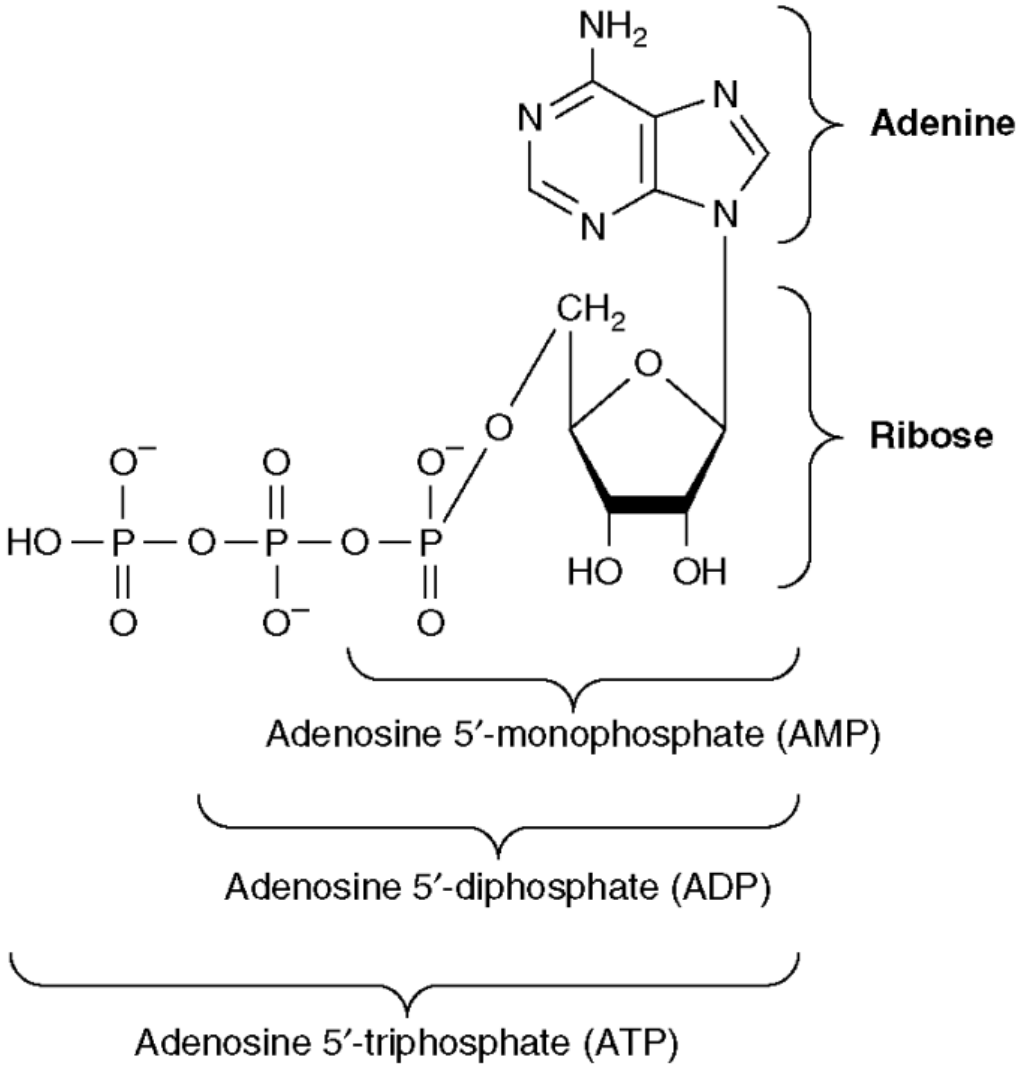


2-deoxy-D-Ribose



اسماء وتراكيب (a) النيوكليوتيدات الديوكسي رايبوز، (b) النيوكليوتيدات الرايبوزية

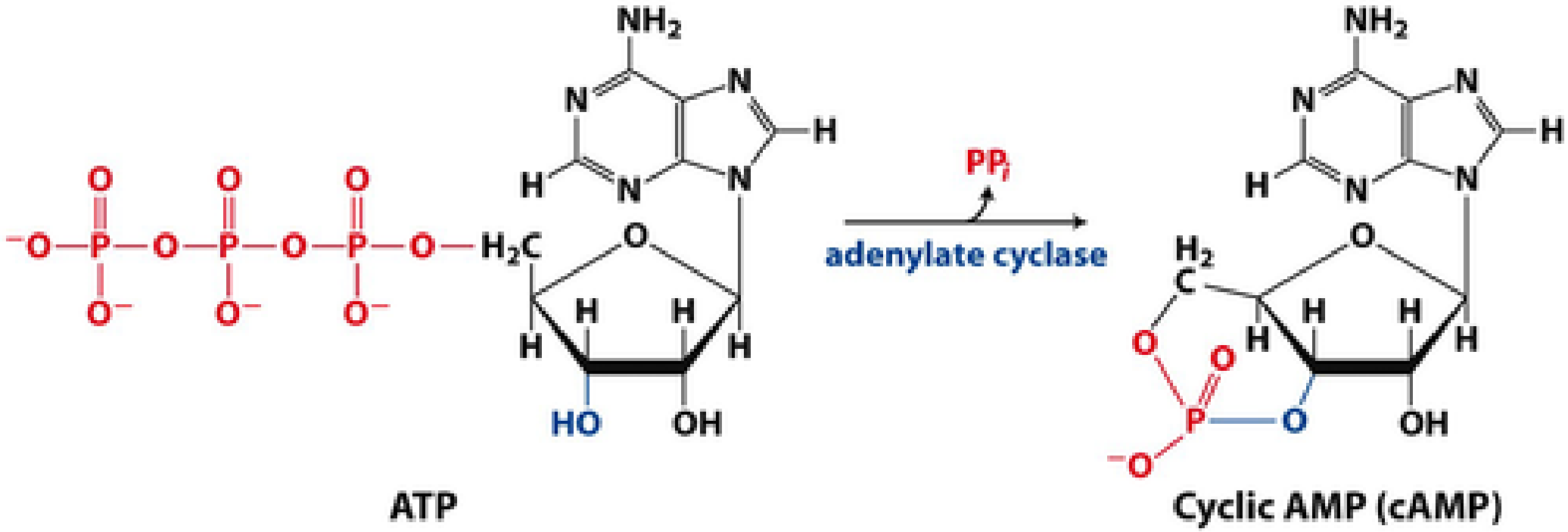
وهناك نيوكليوتيدات ثنائية وثلاثية الفوسفات تدخل في مختلف العمليات الايضية. فمثلا ادينوسين ثنائي الفوسفات Adenosine 5′-diphosphate (ADP) ، وادينوسين ثلاثي الفوسفات Adenosine 5′-triphosphate (ATP)



ان الـ ATP الحامل الرئيسي للطاقة الكيمياوية في الخلايا حيث ينقل مجاميع الفوسفات من عمليات النتاج الطاقة الى العمليات التي تحتاج طاقة عن طريق ازالة مجموعة الفوسفات من الـ ATP ليتكون الـ ADP والذي بدوره يضاف اليه مجموعة فوسفات من عمليات التنفس الخلوي المنتجة للطاقة.

ومن مشتقات النيوكليوتيدات المهمة هو المركب ′3،′5-أدينوسين مونو فوسفات الحلقي cAMP و ′3،′5-كوانين مونو فوسفات الحلقي cGMP

تلعب هذه المركبات دور المرسل أو المخبر الكيمياوي تتحكم بسرعة التفاعلات الانزيمية داخل الخلايا لعدد كبير من الانسجة.



النيوكليوتيدات الاخرى

بالاضافة الى النيوكليوتيدات التي تم شرحها فهناك نيوكليوتيدات اخرى تلعب دورا مهما في العمليات الايضية المختلفة. حيث تعمل كمرافقات (coenzymes)انزيمية مثل الفلافين مونو نيوكليوتيد flavin mononucleotide (FMN) وفلافين أدينين داي نيوكليوتيد flavin adenine dinucleotide (FAD) ونيكوتين-أميد أدينين داي نيوكليوتيد nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)

الأحماض النووية

تمثل النوع الرابع من الجزيئات الحياتية الكبيرة الموجودة في الخلية الحية. تتكون الأحماض النووية من وحدات متكررة من النيوكليوتيدات ، مرتبطة ببعض بوساطة الأواصر ٣-٥ فوسفات ثنائية الأستر - روابط فوسفوديستر. تمتد الأواصرة ٣-٥ فوسفات ثنائية الأستر بين الـ ٣-OH للسكر في جزيء النيوكليوزيد الواحد وبين مجموعة الفوسفات في الـ OH للسكر في جزيء النيوكليوزيد الذي يليه. وهكذا تأتي الأحماض النووية من عمود فقري من وحدات السكر والفوسفات المتعاقبة، تبرز عنها القواعد النتروجينية.

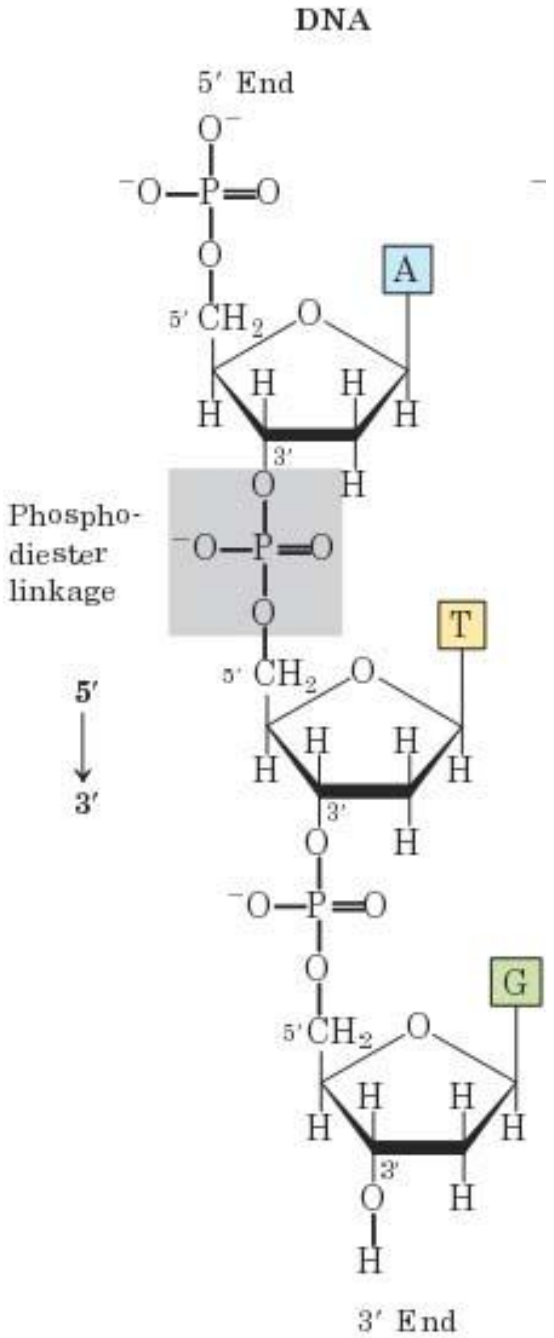
وتحتوي الاحماض النووية الدي اوكسي ريبوزية في جميع انواع الخلايا على اربع وحدات رئيسة من النيوكليوتيدات الاحادية وهي dAMP و dGMP و dTMP و dCMP متصلة بترتيب (تعاقب) مختلف بوساطة الأواصر ٣-٥ فوسفاتثنائية الاستر.وتختلف الاحماض النووية الدي اوكسي ريبوزية المعزولة من انواع مختلفة من الكائنات في نسبة وتسلسل الوحدات الاربع من النيوكليوتيدات الاحادية ، وكذلك تختلف باوزانها تحوي جزيئات الـ DNA اضافة الى القواعد النتروجينية الأربع الرئيسية ، القواعد ولكن بكميات قليلة جداً.

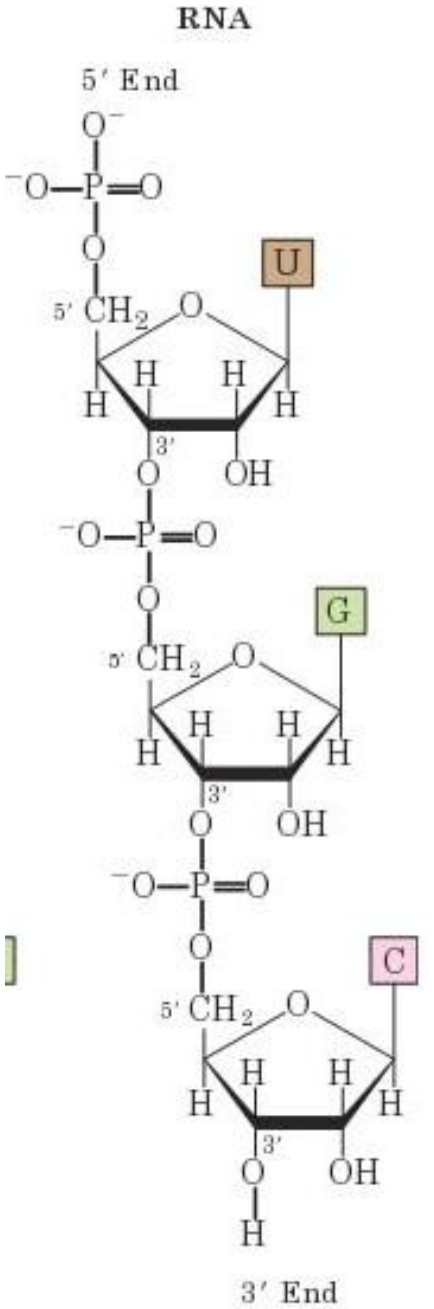
ولقد وجد العالم جاركوف Chargaff والعاملون معه عام ١٩٥٠. ان مجموع نيوكليوتيدات البيورين في الـ DNA مساوية المجموع نيوكليوتيدات البايريميدين . وان كمية الادينين في الـ DNA مساوية لكمية الثايمين وكذلك كمية الكوانين مساوية لكمية السايتوسين. ان تكافؤ القواعد النتروجينية بهذا الشكل ادى الى الاقتراح بان في جزىء ال DNA يقترن الادينين والثايمين مع بعض بوساطة اثنين من الأواصر الهيدروجينية . بينما يقترن السايتوسين والكوانين مع بعض بوساطة ثلاث أواصر هيدروجينية . ولقد اشارت نتائج التسحيح (المعايرة) الى ان جزىء الـ DNA يتألف من سلسلتين نيوكليوتيدية طويلة مثبتة مع بعض بوساطة التاصر الهيدروجيني بين وحدات القواعد النتروجينية المتقابلة للسلسلتين.

نموذج واتسون - كريك لتركيب الـ DNA

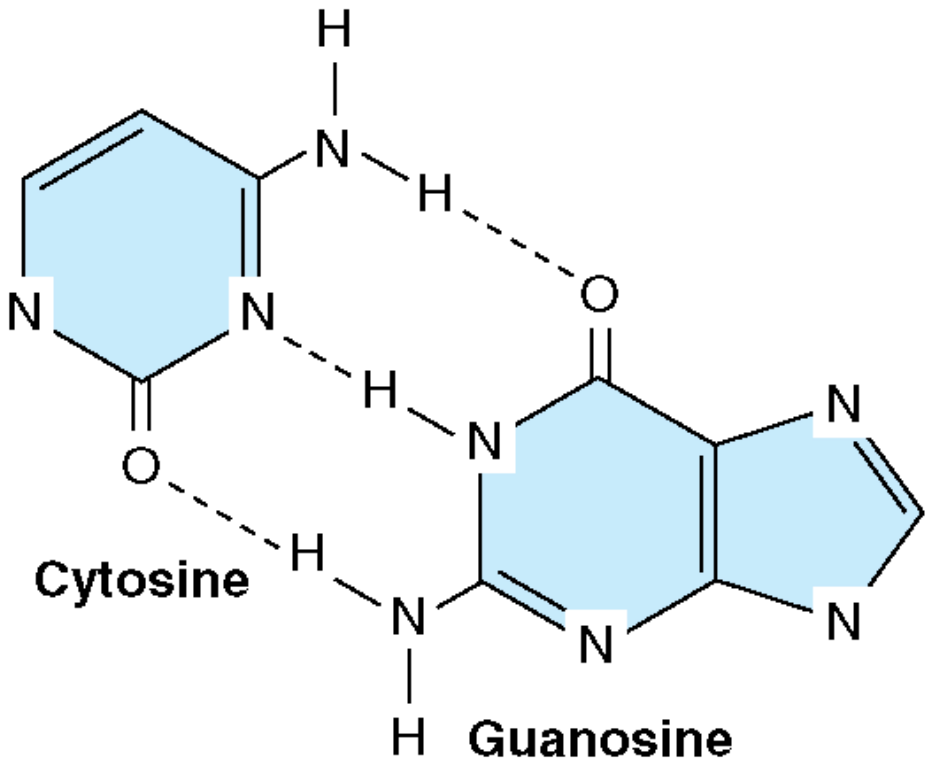
لقد افترض العالمان واتسون وكريك عام ١٩٥٣ نموذجاً ثلاثي الابعاد لتركيب الـ DNA بعد الاخذ بنظر الاعتبار كلا من نتائج التحليل باشعة X - وتكافؤ القواعد وغيرها من الخصائص الكيمياوية والفيزياوية للـ DNA وكذلك افتراض الميكانيكية التي بواسطتها يتم تكرار المعلومات الوراثية . ويشير نموذج واتسون - كريك الى ان الـ DNA يتكون من سلسلتين حلزونيتين من متعدد النيوكليوتيد ملتفتين حول محور واحد لتكوين حلزون مزدوج double helix وان هاتين السلسلتين تسيران باتجاهين متعاكسين (غير متوازيتين) . وان قواعد البيورين والبايريميدين لكل سلسلة تكون مرتبة الى الداخل من الحلزون المزدوج، وأن مستوياتها توازي احداها الاخرى . وان قواعد السلسلة الأولى تقترن بالمستوى نفسه مع قواعد السلسلة الثانية. ويتم الاقتران بين القواعد التي تتلاءم فقط داخل هذا التركيب وبوساطة أواصر هيدروجينية . وان ازواج القواعد المقترنةالملائمة هي G≡C و A = T وهذه تعطي اعظم ثبات واستقرار الجزيئة الـ DNA.

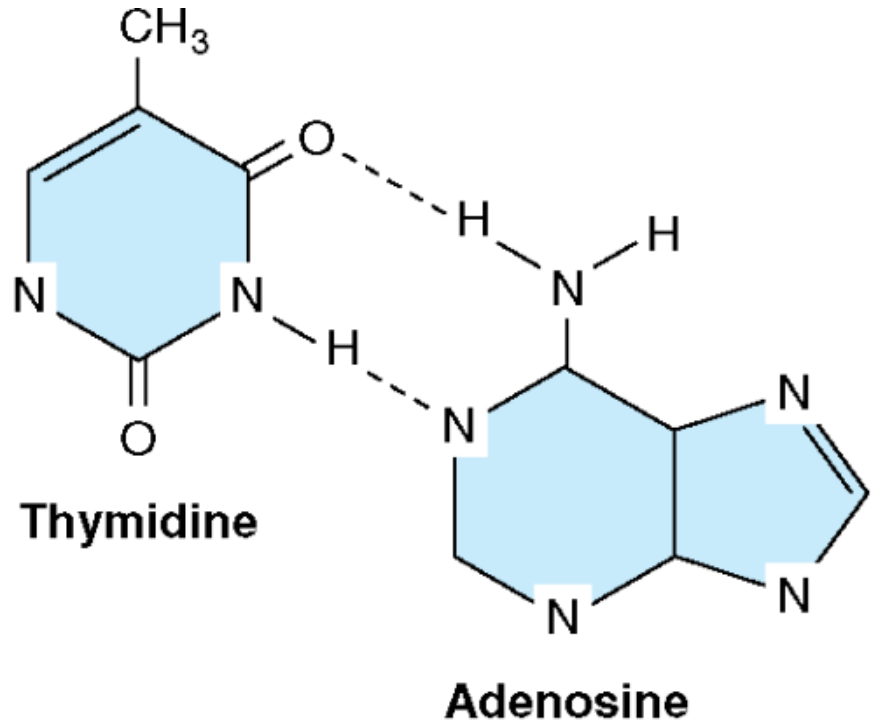
ان سلسلتي متعدد النيوكليوتيد للحلزون المزدوج في ال DNA تكون غير متماثلة بالنسبة لتسلسل قواعدها ولكن تكون متكاملة complementary بعضها مع البعض الآخر. فأينما يكون الادنين في السلسلة فان الثايمين يكون مقابلاً له في السلسلة الاخرى والعكس بالعكس. وبالطريقة نفسها فان الكوانين يوجد في السلسلة بينما يوجد السايتوسين مقابلاً له في السلسلة الأخرى والعكس بالعكس



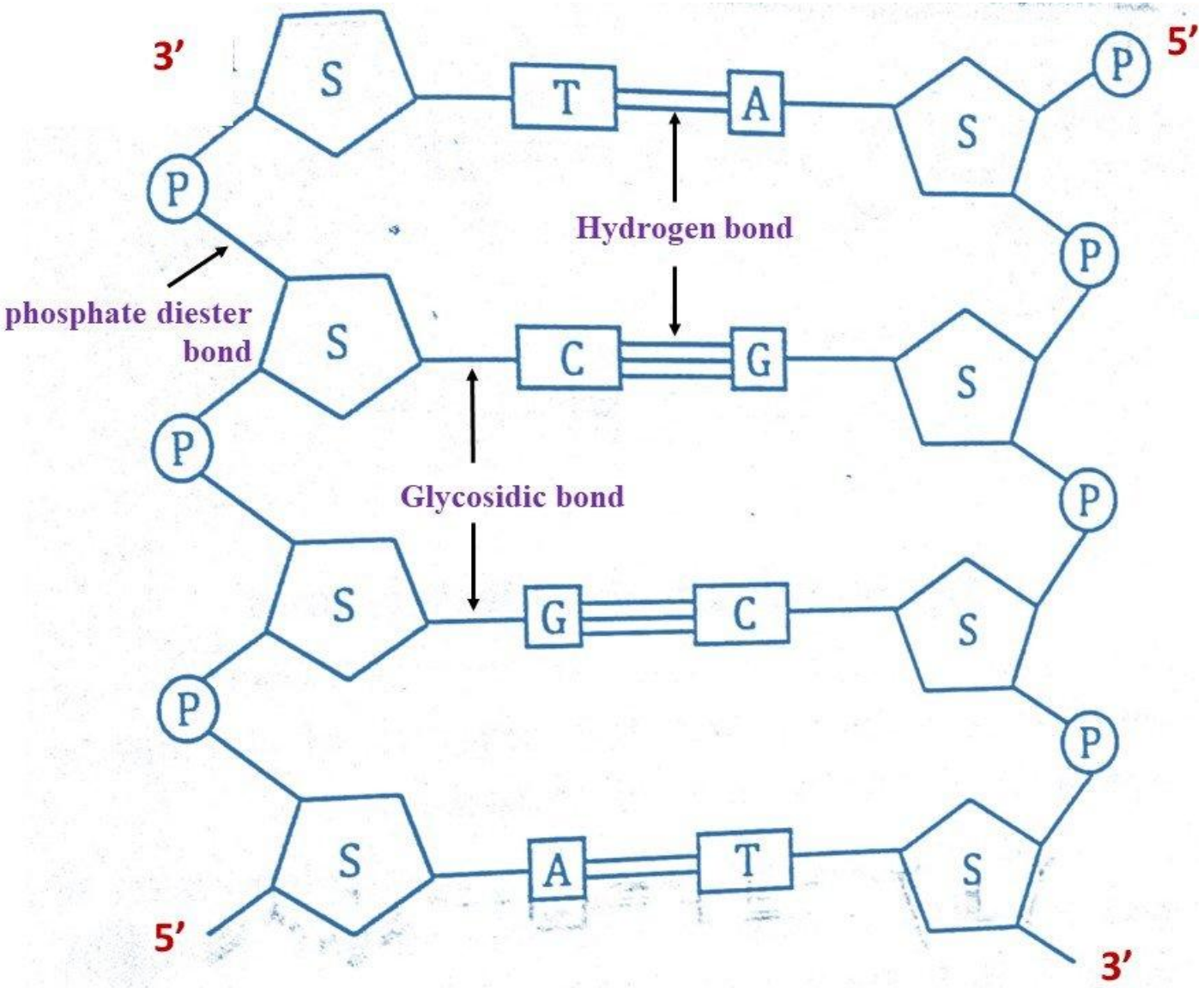


مقطع لتركيب سلسلة نيوكليوتيد في الـ DNA ومقطع اخر في RNA





التاصر الهيدروجيني بين القواعد النيتروجينية



تركيب الحامض النووي الـ DNA

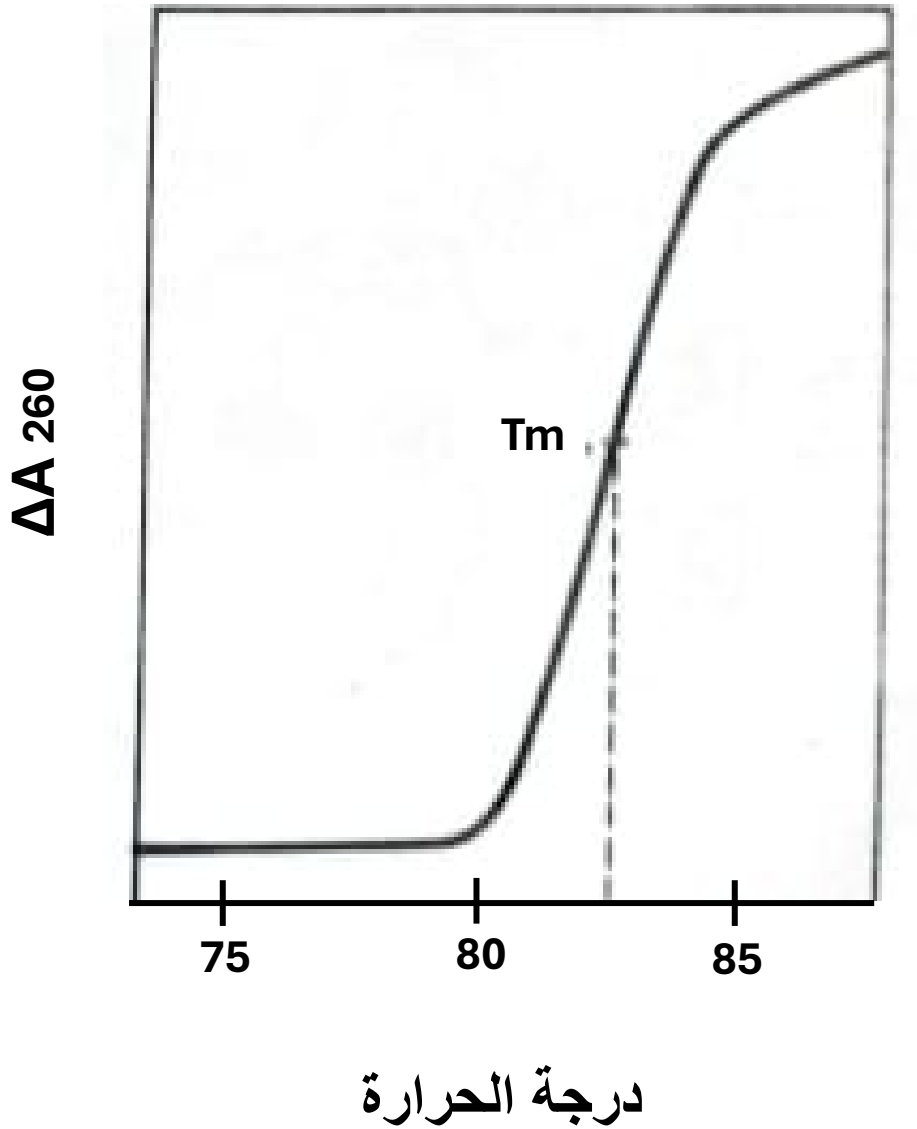
خواص فيزياوية اخرى مهمة للـ DNA الطبيعي

من الممكن فصل الـ DNA الطبيعي بشكله الحلزوني المزدوج من خلايا ممزقة باحدى التقنيات الملائمة ، بوساطة **الاستخلاص** بمحلول ملحي مخفف (NaCl) يتبعه **ترسيب** بالكحول البارد، حيث يكون الـ DNA عديم الذوبان فيه. ويمكن **تنقية** الـ DNA بوساطة احد طرق التحليل الكروماتوكرافي .

درجة ذوبان الـ DNA

ان الجزيئات الطبيعية للـ DNA تتحطم عادة بزيادة قليلة في درجات الحرارة وهي بهذا على العكس من البروتينات الكروية التي تفقد صفاتها الطبيعية بصورة تدريجية في مدى واسع من درجات الحرارة. وفي الحقيقة فان تحطيم الـ DNA او عملية تغير صفاته الطبيعية بالحرارة تعرف غالباً بالذوبان melting . وان نماذج الـ DNA المختلفة لمختلف انواع الخلايا تمتاز باختلاف درجات ذوبانها ايضاً.

تزداد درجة الذوبان بصورة خطية مع ازدياد ازواج قواعد G≡C. وذلك لان الأواصر الهيدروجينية الثلاث للـ G≡C تكون أكثر ثباتا من الأصرتين الهيدروجينيتين للـ A=T. فكلما ازدادت كمية ازواج G≡C كلما ازداد ثبات المركب و ازدادت الطاقة اللازمة لتحطيمه.



وتعرف درجة الذوبان melting temperature بانها درجة الحرارة عند النقطة الوسطية لمنحني الذوبان.

•عند درجات حرارة منخفضة، يكون الامتصاص منخفضًا لأن سلسلتي DNA متصلتان ببعضهما عبر الاواصر الهيدروجينية.

•مع زيادة درجة الحرارة، تبدأ الاواصر الهيدروجينية في الانكسار، وتتفكك السلسلتان تدريجيًا، مما يؤدي إلى زيادة الامتصاص الضوئي عند 260 نانومتر

•عند درجة حرارة الذوبان تكون حوالي 50% من جزيئات الـ DNA قد تفككت، ويكون الامتصاص عند أعلى نقطة في المنتصف.

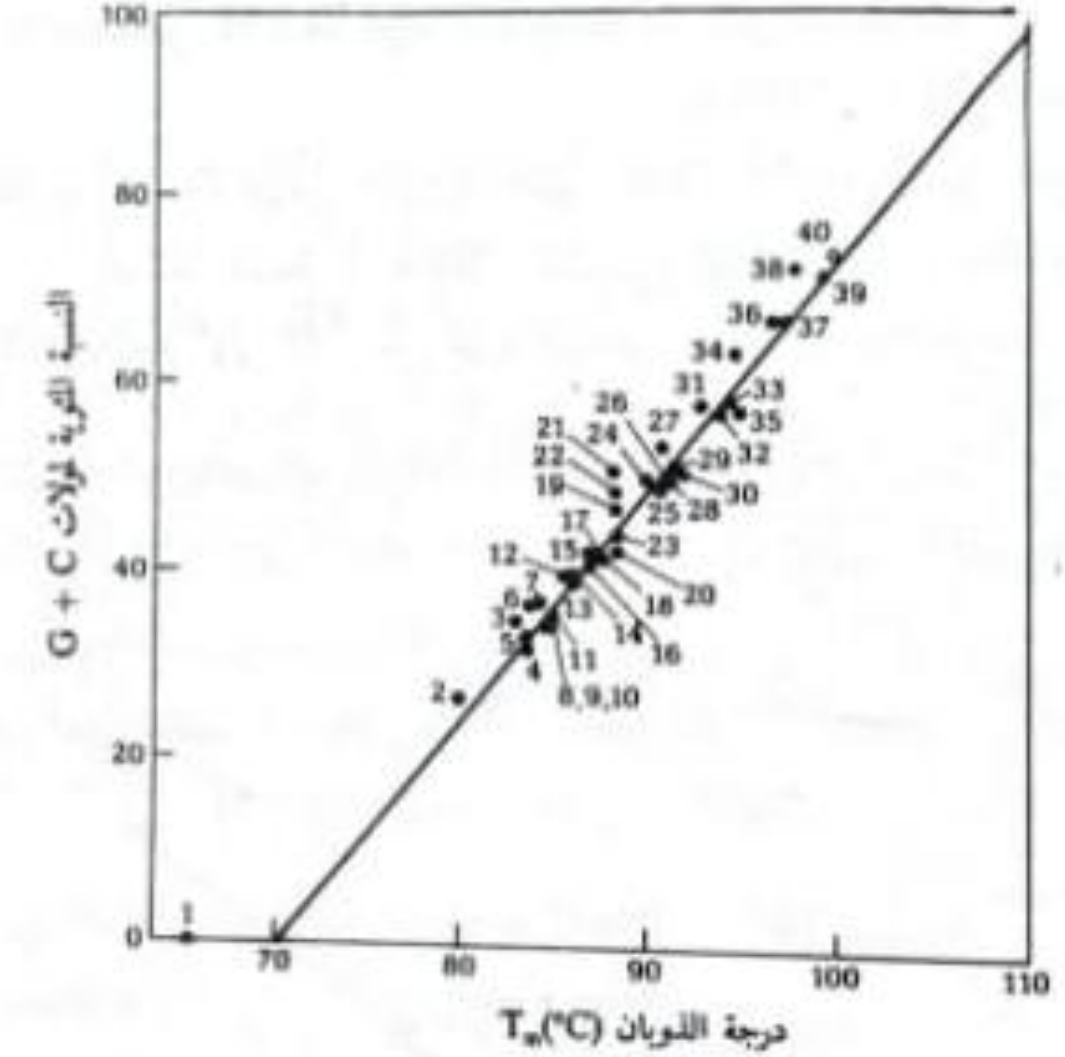
•بعد تجاوز درجة حرارة الذوبان، يصل الامتصاص إلى حالة استقرار عند قيمة أعلى.

الاستنتاج:

من خلال قياس درجة الذوبان بدقة لمجموعة من عينات الـ DNA المختلفة، يمكننا استنتاج التكوين القاعدي لكل عينة. هذا الأسلوب يعتبر أداة قوية في مجال الدراسات الجينية وتحليل الـ DNA، حيث يمكن استخدامه لتحديد الاختلافات في التركيب القاعدي بين الكائنات الحية المختلفة أو حتى بين مناطق مختلفة داخل نفس الجينوم.

مثال عملي:

- إذا كانت درجة الذوبان لجزيء DNA معين هي 85 C° فهذا يشير إلى وجود نسبة عالية من القواعد G≡C
- بينما إذا كانت درجة الذوبان 70 C° فهذا يشير إلى وجود نسبة أعلى من القواعد A=T



رسم بياني لـ درجة الذوبان لأربعين نموذج DNA مختلف من المصادر نبات ، حيوان وراشح مقابل محتوياتها من G≡C قيست جميع النماذج تحت ظروف متماثلة

ظاهرة زيادة الامتصاص الضوئي للاشعة فوق البنفسجية عند 260 نانومتر من قبل الـ DNA (Hyperchromic Effect)

•جزيء الـ DNA الطبيعي يمتص الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 260 نانومتر .

•عندما يتم تسخين DNA أو تعريضه لعوامل تؤدي إلى المسخ تنفصل سلسلتا الـ DNA عن بعضهما، مما يؤدي إلى زيادة كبيرة في امتصاص الضوء عند هذا الطول الموجي هذه الظاهرة تُعرف باسم **تأثير Hyperchromic Effect**

•نسبة القواعد A=T تؤثر بشكل كبير على زيادة الامتصاص، حيث أن هذه القواعد تحتوي على روابط هيدروجينية أقل وتنفصل بسهولة أكبر مقارنة بالقواعد G≡C

•تستخدم هذه الظاهرة لدراسة استقرار DNA وتحديد تركيبه القاعدي. على سبيل المثال:الكائنات التي تعيش في بيئات شديدة الحرارة (مثل البكتيريا الحرارية) غالبًا ما تحتوي على نسبة عالية من القواعد G≡C لجعل DNA أكثر استقرارًا.

•كما يمكن استخدام هذه الظاهرة لدراسة مناطق معينة في الجينوم. على سبيل المثال: المناطق الغنية بقواعد A=T تكون أقل استقرارًا حتى يسهل فتح الحلزون المزدوج للـ DNA أثناء عملية النسخ.

تغير الصفات الطبيعية (المسخ) للـ DNA Denaturation of DNA

يكون الحلزون المزدوج الطبيعي لجزىء الـ DNA ثابتاً تماماً عند رقم هيدروجين = ٧ ودرجات الحرارة الاعتيادية. ولكنه يعاني وبصورة سريعة تغيراً في التواءاته الحلزونية وانعداماً في ترتيبها عندما يتعرض الى زيادة كبيرة جداً في قيمة **الرقم الهيدروجيني**، **ولدرجات حرارة** أكثر من ٧٠-٨٠ او عند تعرضه الى تركيز عال **للكحول واليوريا** وبعض المواد الأخرى. وبما ان هذه العوامل مشابهة لتلك العوامل المسببة لتغيير الصفات الطبيعية للبروتينات وفك التواءاتها ، لذا فقد تم الاستنتاج بان الحلزون المزدوج الطبيعي للـ DNA يعاني هذه العملية نفسها.

ان الـ DNA الطبيعي يكون ثابت التركيب بوساطة قوتين هما الأصرة الهيدروجينية والاصرة الهايدروفوبيك hydrophobic (ميل المجاميع الكارهة للماء بالتقرب مع بعض مثل الحلقات العطرية للقواعد النيتروجينية). واذا حدث ان اعيقت احدى هاتين القوتين او كلتاهما ، فإن الحلزون المزدوج يعاني من انفكاك التواءاته الى التواءات مبعثرة غير مرتبة . غير انه قد لا يحدث اي كسر للاواصر التساهمية في هيكل الـ DNA .

المسخ يؤثر بشكل كبير على الوظائف البيولوجية للـ DNA، حيث يؤدي إلى فقدان القدرة على نسخ الجينات (transcription)

الطفرات Mutations

هناك عدة وسائل معروفة تسبب الطفرات الوراثية حيث تحدث تغيرات كيمياوية او فيزياوية للـ DNA تتوارثها الإجيال ونتيجة لذلك تتكون بروتينات يكون تسلسل احماضها الأمينية متغيراً. وغالباً ما تكون هذه البروتينات المعابة تنقصها الفعالية الحيوية الطبيعية التي قد تؤدي الى موت الكائن الحي.

ويمكن ان تحدث الطفرات بوساطة الطاقة الاشعاعية على شكل اشعة X او الاشعة فوق البنفسجية او بوساطة عوامل كيمياوية لها القدرة على الارتباط الكيمياوي مع قاعدة البيورين أو البايريميدين المتحورتين. مثال على ذلك حامض النتروز الذي يستطيع تحويل مجموعة امين الى مجموعة هيدروكسيل. كما ان لبعض العوامل المسببة للطفرات الوراثية القدرة على حذف او ادخال قواعد.

ان اصغر موقع لطفرة في الـ DNA هو وحدة نيوكليوتيد واحدة، وفي بعض الطفرات هناك احلال قاعدة بيورين (A) بدلاً من G ، او G بدلاً من (A) او قاعدة بايريميدين محل اخرى (C) محل T ، او T محل (C). وقد تشمل الطفرات احلال قاعدة بيورين محل قاعدة بايريميدين أو بالعكس وفي بعض الاحيان تحذف عدة نيوكليوتيدات فتسبب الطفرة .

الحامض النووي الريبوزي حامض ريبونيوكليك Ribonuleic acid (RNA)

يتألف جزيء حامض ريبونيوكليك (RNA) من سلسلة طويلة واحدة لمتعدد نيوكليوتيد وتكون وحدات السكر فيها الريبوز. وتحوي هذه السلسلة على القواعد الرئيسية الاربع الكوانين والسايتوسين والادينين واليوراسيل .

تكون جزيئات الـ RNA في الخلية على ثلاثة انواع رئيسية .

RNA الرسول :(Messenger RNA (mRNA : يعمل كـ "رسول" يحمل المعلومات الوراثية من DNA إلى الريبوسومات لتصنيع البروتينات.

RNA الناقل :(Transfer RNA (tRNA : ينقل الأحماض الأمينية إلى الريبوسومات أثناء تصنيع البروتينات.

RNA الرايبوسومي :(Ribosomal RNA (rRNA : يشكل الجزء الهيكلي والوظيفي الأساسي للريبوسومات المسؤولة عن تصنيع البروتينات من خلال عملية الترجمة.

الحامض النووي الريبوزي الناقل tRNA

يوجد الـ tRNA في السايتوبلازم وهو يشكل ١٠-١٥% من الـ RNA الكلي للخلية. وتعمل جزيئات الـ tRNA على نقل الأحماض الأمينية الى مراكز محددة في مواقع تكوين البروتين. لكل حمض أميني يوجد نوع خاص من tRNA مرتبط به مما يعني أن هناك أنواعًا مختلفة من الـ tRNA في الخلية. وقد يصل عدد جزيئات الـ tRNA في الخلية الحيوانية الى 10^8 جزيئة. ويتراوح طول السلسلة النيوكليوتيدية المكونة الجزي الـ RNA عموماً من ٦٧ - ٨٥ وحدة نيوكليوتيد .

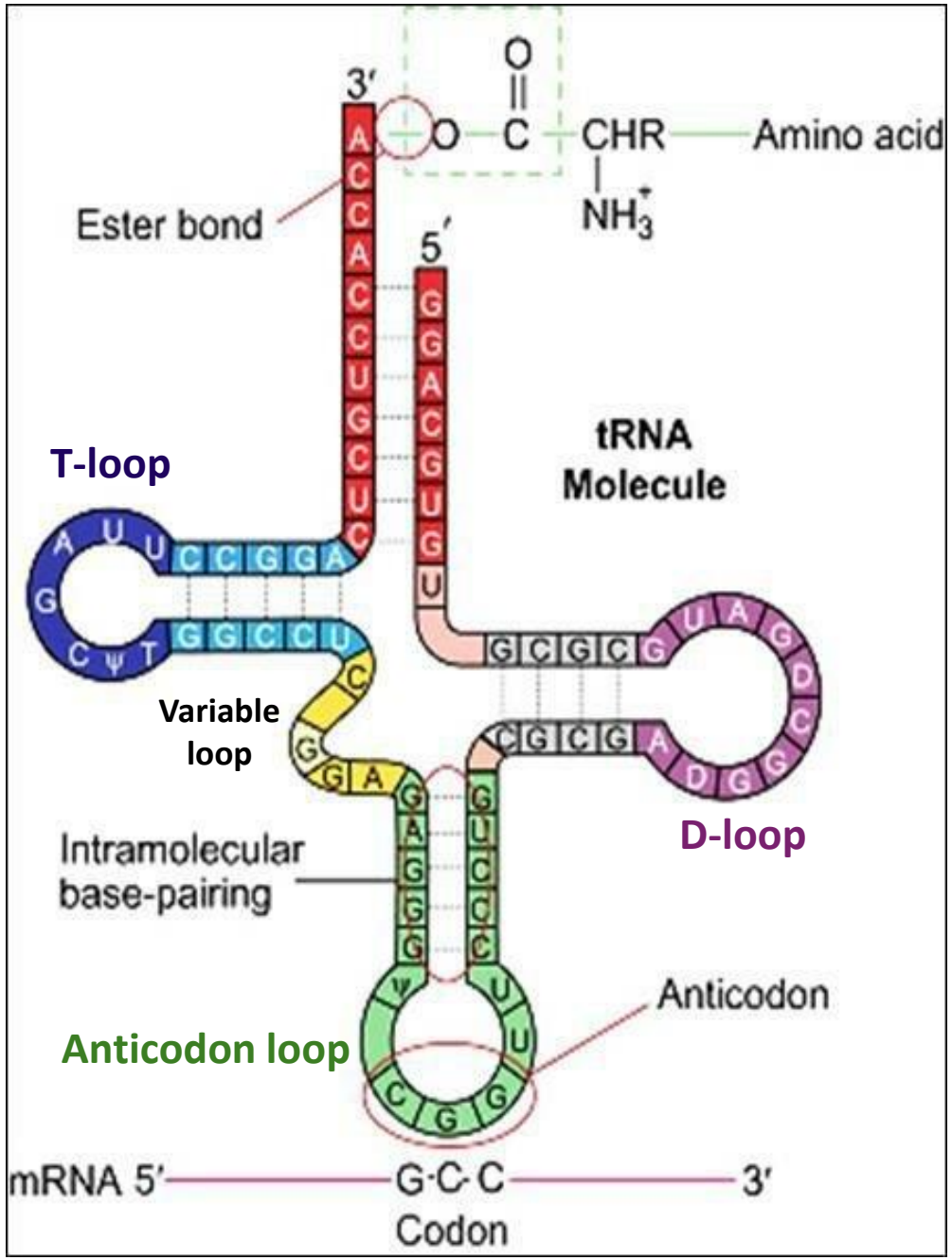
وبالرغم من ان جزئي الـ tRNA يحوي النيوكليوسيدات الأربع الشائعة الا انه يحتوي أيضا على ريبونيوكليوسيدات اخرى نادرة وغير اعتيادية تساعد في تخصص ال tRNA . ولجزيء الـ tRNA تركيب ثالثي يتضمن مناطق حلزونية والتفافات. وبصورة غالبة فان السلسلة النيوكليوتيدية لجزيء الـ tRNA تكون تركيباً له شكل ورقة البرسيم Clover leaf . حيث يعطي هذا الشكل ثباتاً واستقراراً عال الجزي الـ tRNA بسبب احتوائه على أعلى درجة من التاصر الهيدروجيني بين القواعد النتروجية للسلسة.

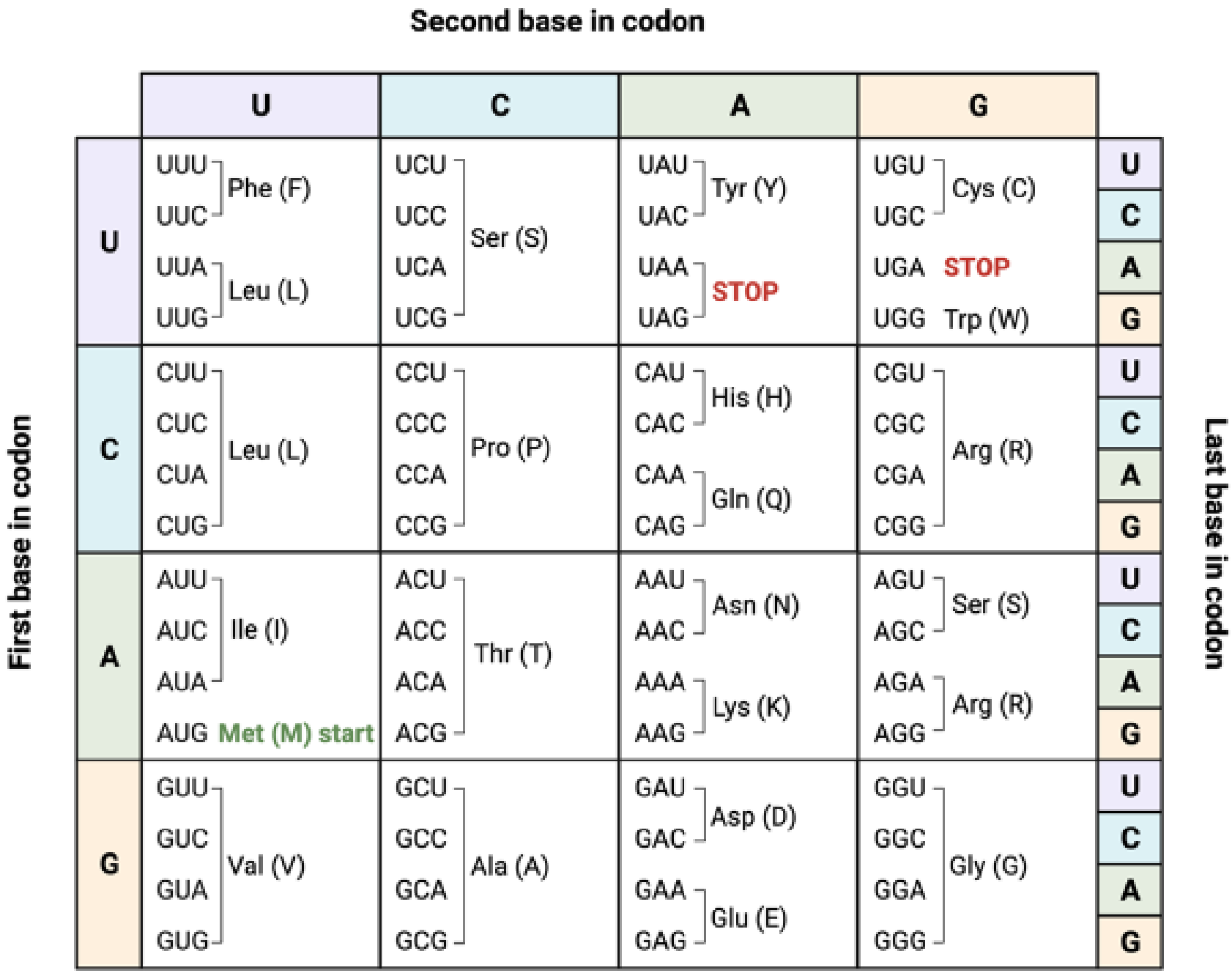
الحامض النووي الريبوزي الناقل tRNA

ولقد تبين ان احد طرفي جزئي الـ tRNA ينتهي بمتخلف أدينوسين -`3 وهو الطرف المتأستر مع مجموعة الكربوكسيل COOH- للحامض الأميني المعين.

كما تبين ايضاً ان كل جزيئة tRNA تحتوي على ثلاث نيوكليوتيدات متعاقبة ومحددة ، وتشغل موضعا معينا واحداً في التركيب الذي يشبه ورقة البرسيم وتدعى هذه بالدالة المقابلة او المكملة anticodon (وهو مجموعة من ثلاثة قواعد نيتروجينية تعمل كمفتاح لتشفير المعلومات الجينية.). ويكون كل من الدالة المقابلة هذه مكملة لتعاقب نيوكليوتيد ثلاثي معين في الـ mRNA والذي يسمى بالدالة (شفرة) codon والأخير متخصص (يشفر) حامض أميني محدد.

أثناء عملية الترجمة يقوم tRNA بنقل الأحماض الأمينية إلى مواقعها الصحيحة على الريبوسومات بناءً على الموقع المضاد ((Anticodon الذي يتوافق مع الموقع المشفر (Codon) على mRNA .



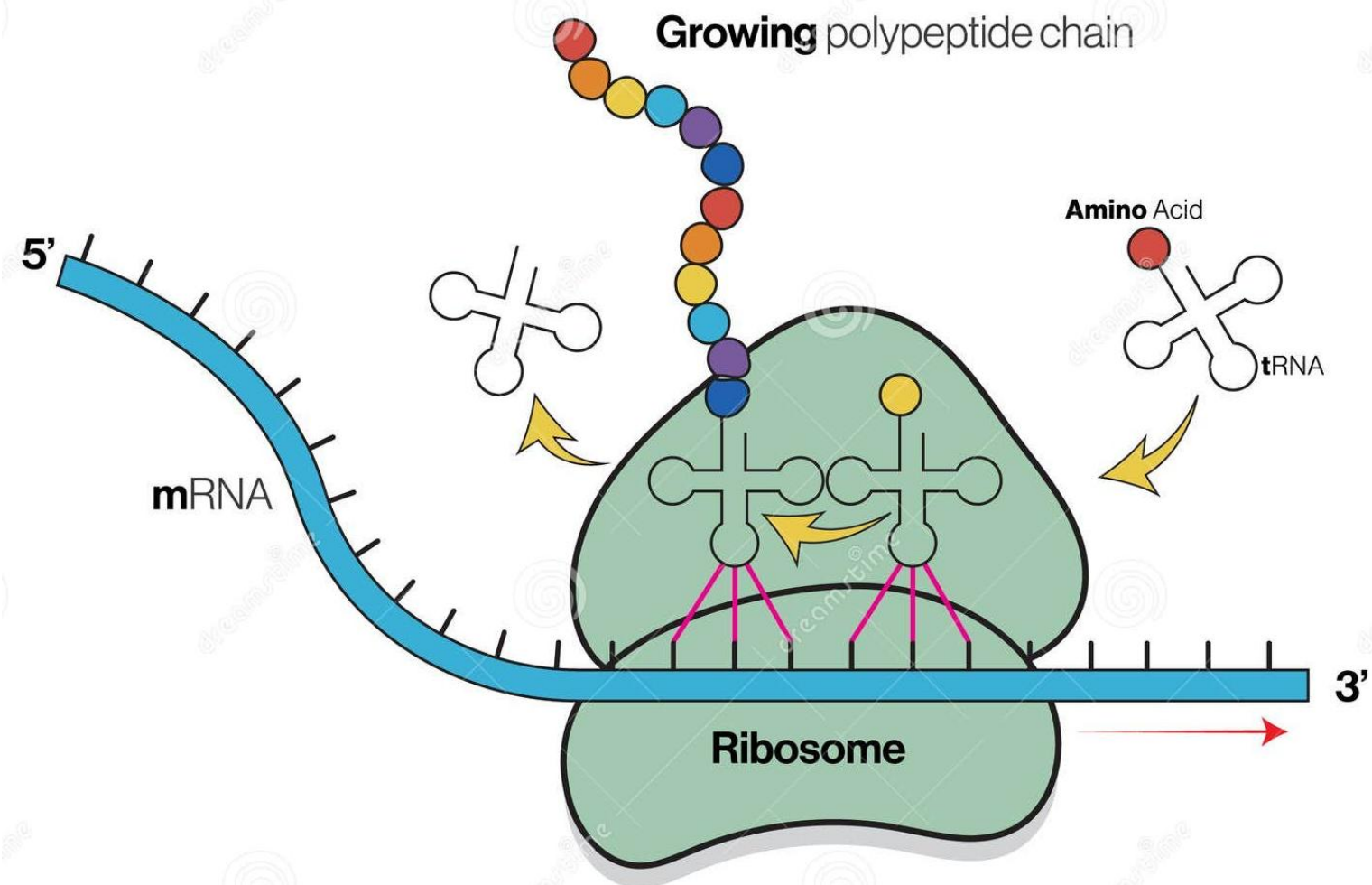

Second base in codon
First base in codon
Last base in codon
U
C
A
G
UUU Phe (F)
UUC
UUA Leu (L)
UUG
UCU Ser (S)
UCC
UCA
UCG
UAU Tyr (Y)
UAC
UAA STOP
UAG
UGU Cys (C)
UGC
UGA STOP
UGG Trp (W)
CUU Leu (L)
CUC
CUA
CUG
CCU Pro (P)
CCC
CCA
CCG
CAU His (H)
CAC
CAA Gln (Q)
CAG
CGU Arg (R)
CGC
CGA
CGG
AUU Ile (I)
AUC
AUA
AUG Met (M) start
ACU Thr (T)
ACC
ACA
ACG
AAU Asn (N)
AAC
AAA Lys (K)
AAG
AGU Ser (S)
AGC
AGA Arg (R)
AGG
GUU Val (V)
GUC
GUA
GUG
GCU Ala (A)
GCC
GCA
GCG
GAU Asp (D)
GAC
GAA Glu (E)
GAG
GGU Gly (G)
GGC
GGA
GGG

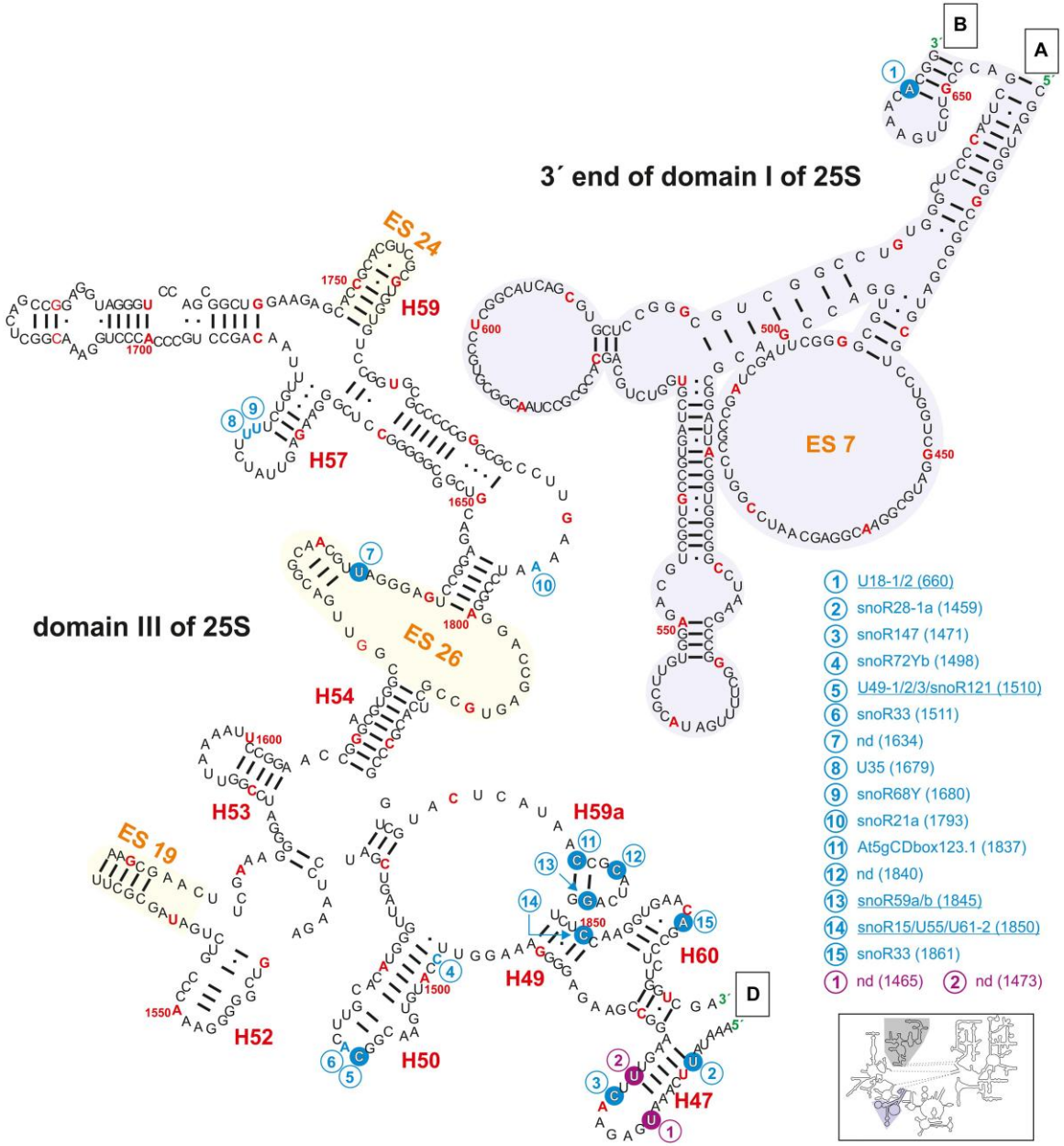
الحامض النووي الريبوزي الريبوسومي Ribosomal RNA (rRNA)

يؤلف الـ RNA الريبوسومي نسبة ٨٠% من تركيب الريبوسومات. حيث تحتوي دقائق الريبوسومات هذه والتي يبلغ قطرها حوالي ٢٠ نانومتر على بروتين و rRNA، والريبوسومات هي مواقع تكوين البروتين. وفي الخلية الحيوانية هناك 5×10^6 من الريبوسومات تقريباً. تتألف الريبوسومات عموماً من وحدتين ثانويتين مختلفتان في الحجم تعملان كوحدة متكاملة في التكوين الحياتي للبروتينات. تعمل الوحدة الثانوية الصغيرة للريبوسوم على ربط mRNA وتحديد موقع بدء الترجمة ، بينما تشارك الوحدة الكبيرة في تكوين الاواصر الببتيدية بين الأحماض الأمينية.

ويحتوي الـ rRNA في الغالب على القواعد النتروجينية كوانين وسايتوسين بنسبة ٥٠ - ٦٠% من التركيب الكلي. كما يحوي على قواعد نتروجينية نادرة اخرى. وللـ rRNA تركيب ثلاثي وهو يحتوي في تركيبه مناطق الحلزون مزدوج وآخر منفرد. كما ان الـ rRNA يكون اغلب سطح الريبوسومات .

يلعب الـ rRNA دورًا رئيسيًا في عملية الترجمة ، حيث يعمل كمنصة لربط mRNA و tRNA، ويشارك في تكوين الاواصر الببتيدية بين الأحماض الأمينية.

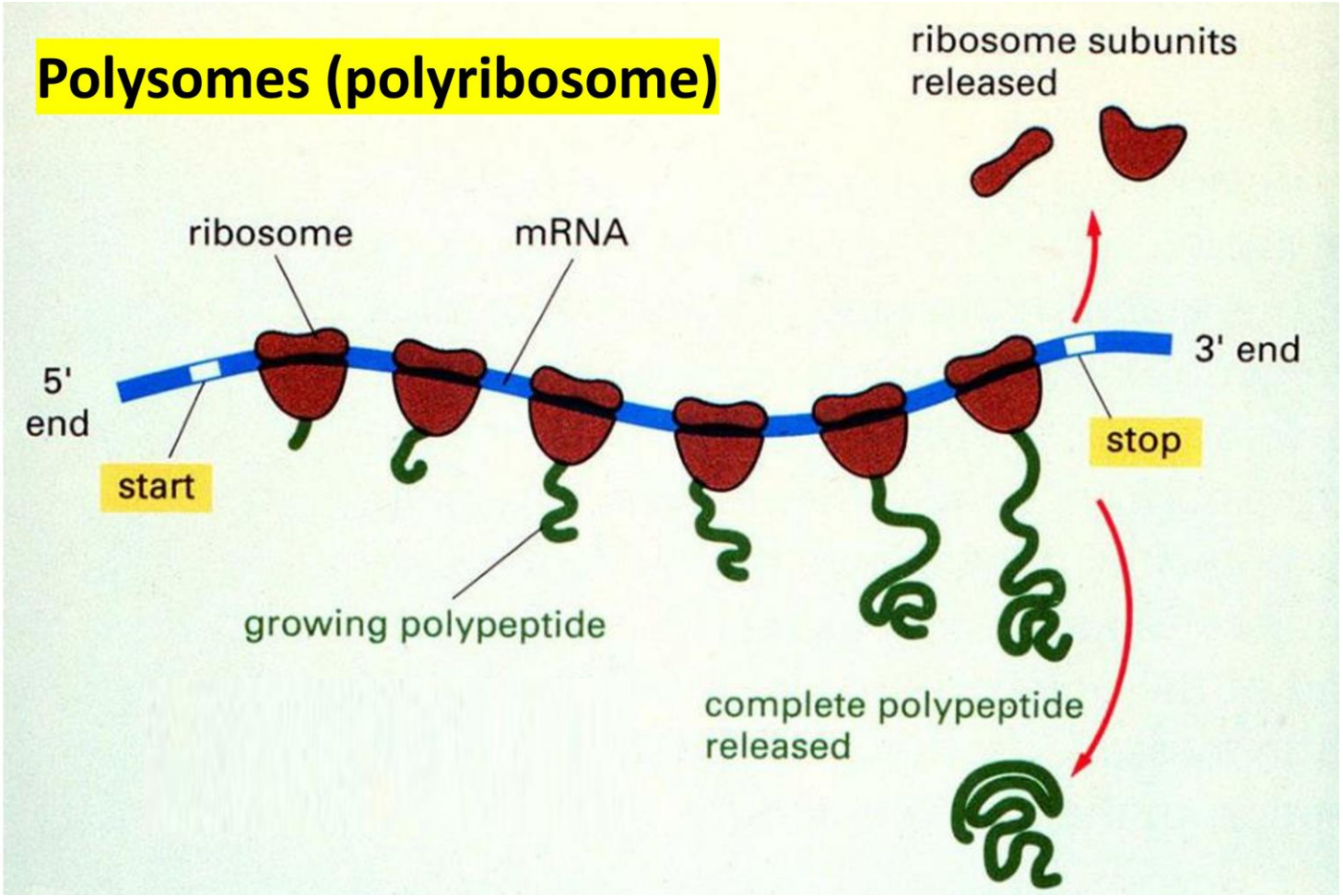

Growing polypeptide chain
Amino Acid
tRNA
5'
mRNA
3'
Ribosome



الشكل يوضح البنية الثانوية لجزء rRNA ، وهي جزء من الريبوسوم الكبير في حقيقيات النوى. البنية تحتوي على حلقات وأجزاء ممتدة ومواقع مميزة تُستخدم كنقاط ارتباط لعوامل بيولوجية مختلفة. هذه البنية المعقدة ضرورية لتحقيق وظائف الـ rRNA في عملية الترجمة.

الحامض النووي الريبوزي الرسول (المخبر) Messenger RNA (mRNA)

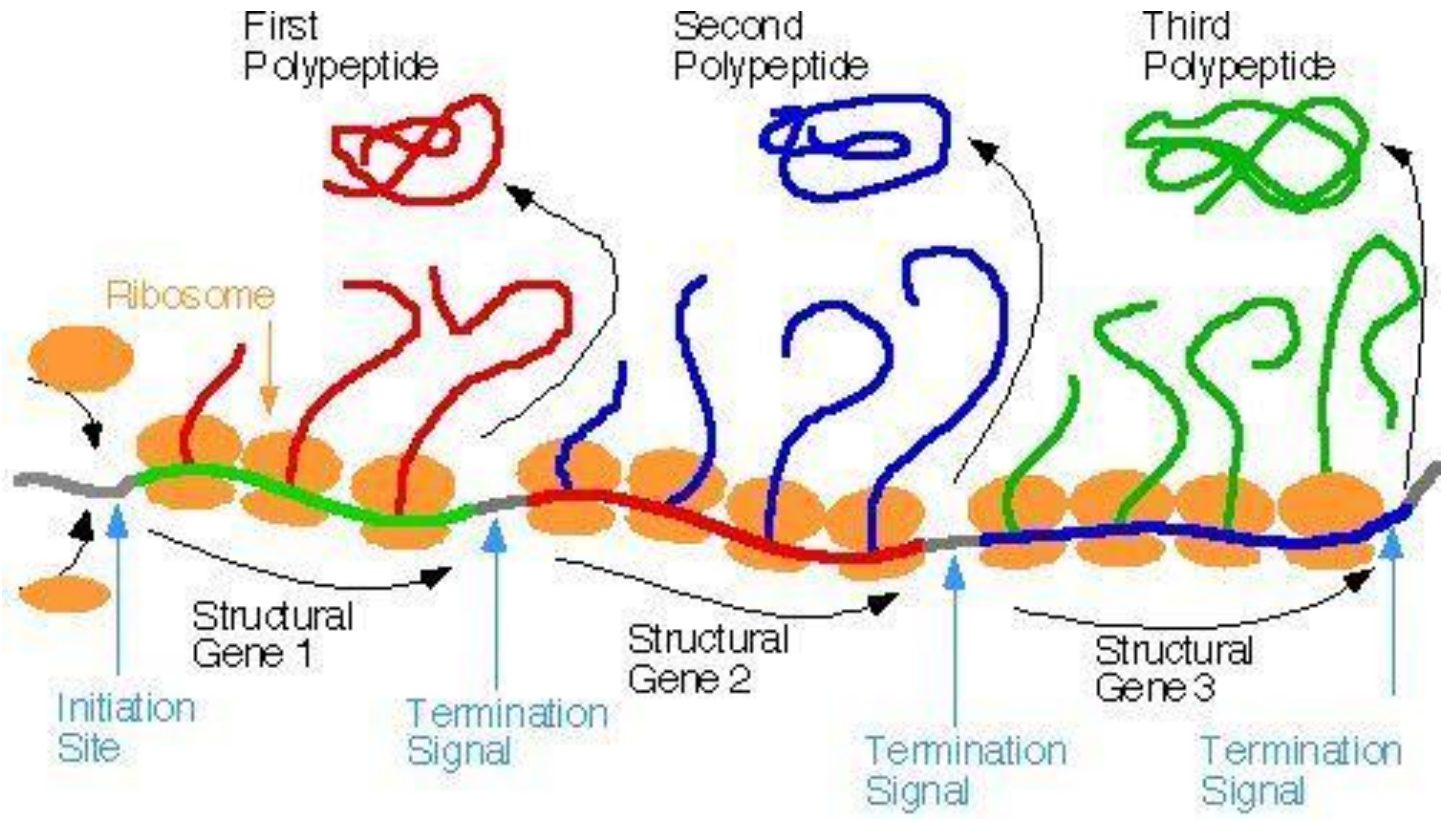
يؤلف الـ mRNA نسبة ٣-٥% من الـ RNA الخلوي . ويتميز باتحاده العكسي مع الريبوسومات مكونا بولي سومات polysomes (هي تراكيب تحتوي على أكثر من ريبوسوم متصل بجزيء mRNA الواحد).



الحامض النووي الريبوزي الرسول (المخبر) Messenger RNA (mRNA)

وعندما يكون معدل طول السلسلة البروتينية ٣٠٠ - ٥٠٠ حامض أميني فانه يكون طول جزي الـ mRNA المطابق ، ٩٠٠ - ١٥٠٠ نيوكليوتيد . حيث ان كل جزئ mRNA يحمل شفرات (رموز المعلومات تحدد تكوين نوع واحد من البروتين) .

غير أن هناك جزيئات mRNA تحمل شفرات تحدد تكوين اكثر من نوع واحد من جزيئات البروتين وهذه تدعى mRNA بولي سيسترونيك **(polycistronic mRNA)** ، وبالطبع فهي تحتوي على عدد من النيوكليوتيدات أكثر يُوجد بشكل رئيسي في البكتيريا والكائنات بدائية النواة (انظر فصل (١٤).

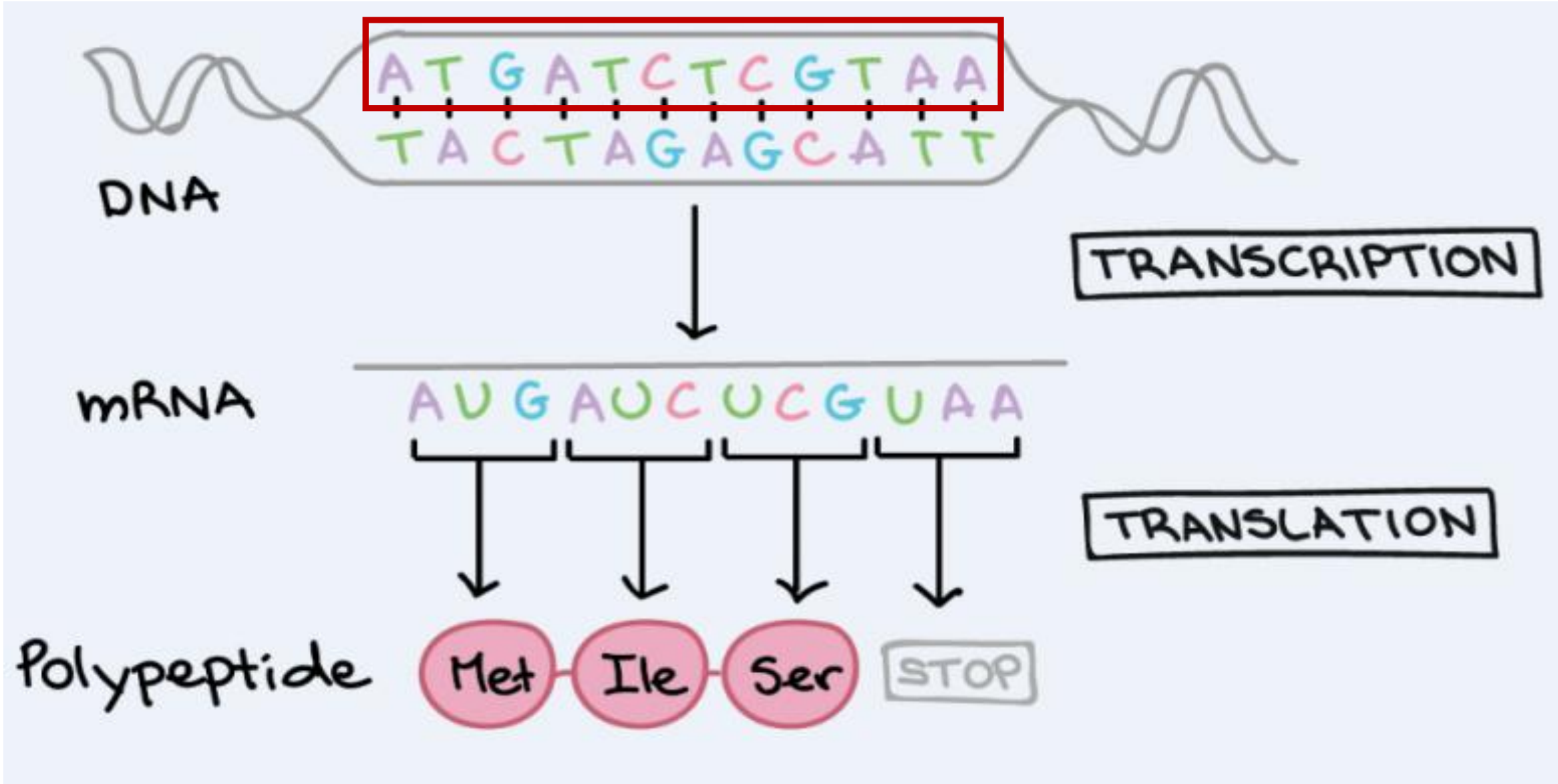


بداية الشفرة (Start Codon)

- بداية الشفرة هي الموقع الذي يبدأ فيه تصنيع البروتين أثناء عملية الترجمة. يتم تمثيله بتسلسل معين من القواعد النيتروجينية يُسمى . Codon ويكون في الـ mRNA وهو عادة AUG والذي يرمز إلى الحمض الأميني ميثيونين (وهو أول حمض أميني في السلسلة البروتينية)
- يرتبط الـ tRNA الخاص بالميثيونين مع هذا الكودون عبر موقع الـ anticodon الخاص به.

نهاية الشفرة (Stop Codon)

- نهاية الشفرة هي الموقع الذي يتوقف عنده تصنيع البروتين أثناء عملية الترجمة. يتم تمثيله أيضًا بتسلسل معين من القواعد النيتروجينية في الـ mRNA وهي: UAA ، UAG ، UGA
- الوظيفة تعمل كإشارة للتوقف، حيث تخبر الريبوسومات بالتوقف عن إضافة المزيد من الأحماض الأمينية إلى السلسلة البروتينية.


ATGATCTCGTAA
TACTAGAGCATT
DNA
TRANSCRIPTION
mRNA
AUGAUCUCGUAA
TRANSLATION
Polypeptide
Met
Ile
Ser
STOP

الحامض النووي الريبوزي الرسول (المخبر) Messenger RNA (mRNA)

وتتكون جزيئات الـ mRNA داخل نواة الخلية بآلية معينة تدعى الاستنساخ transcription بحيث يكون تسلسل القواعد النتروجينية في الـ mRNA مكملاً لتسلسل قواعد نتروجينية في سلسلة الحامض النووي DNA (انظر الفصل ١٤). بعد ذلك تنتقل جزيئات mRNA المختلفة الى الريبوسومات، مواقع تكوين البروتين في السايتوبلازم ، حيث تحدد ترتيب (تعاقب) الأحماض الأمينية خلال تكوين البروتينات . (انظر فصل ١٣) .

وتحوي الخلية الواحدة على مئات من جزيئات الـ mRNA. وهكذا بمشاركة كل من الحامض النووي الرايبوسومي rRNA والناقل tRNA والرسول mRNA تتم عملية بناء البروتينات في الريبوسومات .

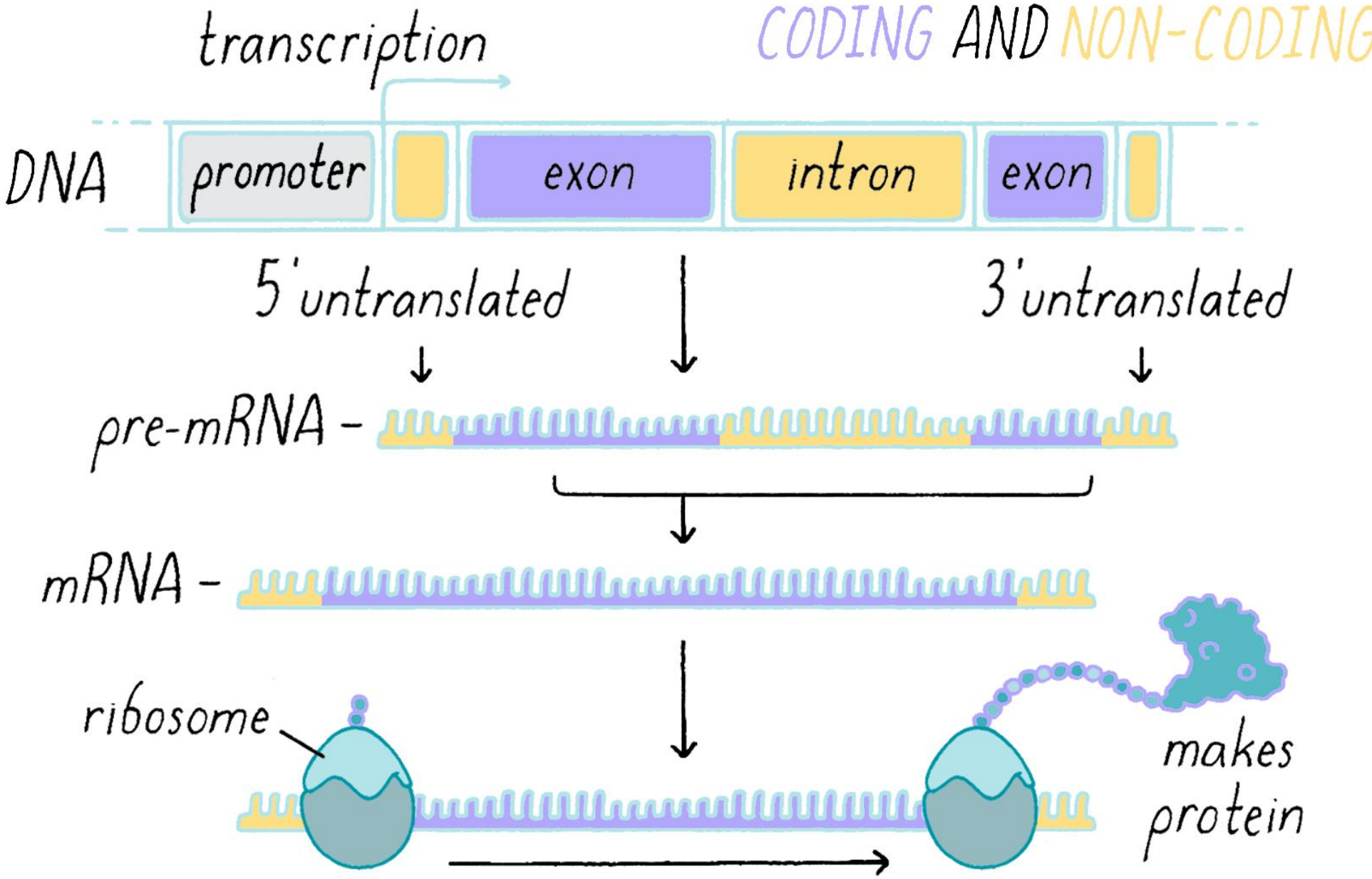
•نصف العمر هو الوقت الذي يستغرقه تدهور أو فقدان نشاط ٥٠% من جزيئات mRNA . يختلف نصف عمر mRNA بشكل كبير بين الكائنات الحية، مثل البكتيريا والخلايا الحيوانية، وذلك بسبب اختلاف آليات التحكم في التعبير الجيني وتكوين البروتين.

ويبلغ نصف عمر ال mRNA في البكتريا أقل من دقيقتين (هذا يعني أن جزيئات mRNA تتحلل بسرعة كبيرة بعد تصنيعها لان البكتيريا تحتاج إلى استجابة سريعة للتغيرات البيئية، وبالتالي يتم تحلل mRNA بسرعة لإيقاف إنتاج البروتينات غير الضرورية). ان الوقت اللازم لتكوين بروتين كامل في البكتيريا يتراوح بين ١٠-٢٠ ثانية فقط ، وهذا يعني أن mRNA يمكن أن ينتج العديد من البروتينات خلال فترة حياته القصيرة.

بالمقابل فان نصف العمر الـ mRNA في الخلايا الحيوانية بضع ساعات او ايام (لان الخلايا الحيوانية تحتاج إلى تنظيم أكثر تعقيدًا للتعبير الجيني، مما يجعلها تحتفظ بجزيئات mRNA لفترة أطول) وهذا يعني أن mRNA يمكن أن ينتج كميات كبيرة من البروتينات خلال فترة حياته الطويلة.

المناطق المختلفة في الـ DNA

- Promoter: : هو منطقة في DNA تقع قبل الجين وتُستخدم كمواقع ارتباط لإنزيمات مثل RNA البوليميراز.
- Exons: هذه هي الأجزاء التي تحتوي على المعلومات الوراثية التي يتم ترجمتها إلى بروتينات.
- Introns: هذه هي الأجزاء التي لا تُترجم إلى بروتينات. يتم إزالتها أثناء عملية التعديل (Splicing) بعد النسخ لإنتاج mRNA النهائي.


CODING AND NON-CODING
transcription
DNA
promoter
exon
intron
exon
5' untranslated
3' untranslated
pre-mRNA -
mRNA -
ribosome
makes protein