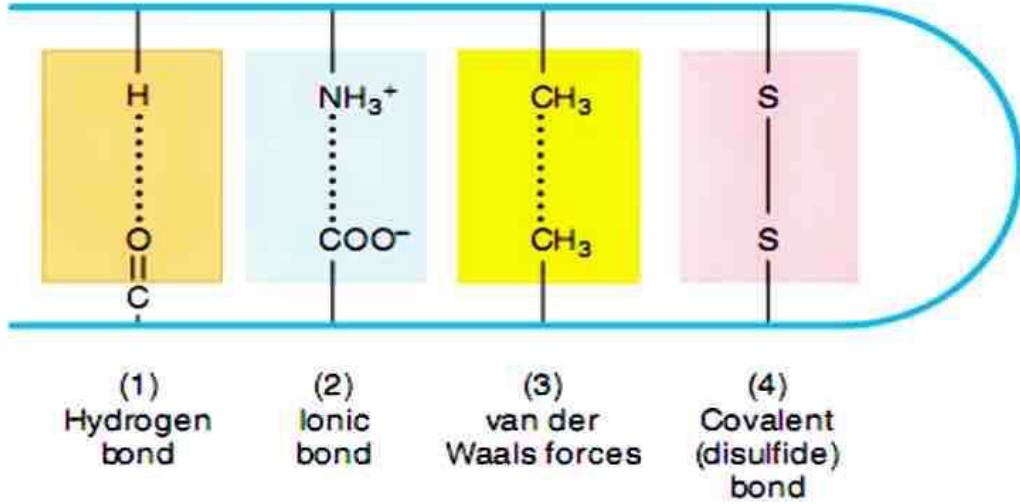


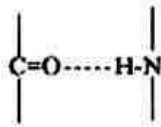
Polypeptide chain



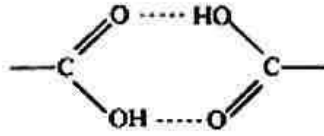
الشكل (5-6): بعض الأواصر التي تزيد من استقرار البروتين.

1- الأواصر ثنائية الكبريت **Disulphide bonds** : إن هذا النوع من الأواصر قد يربط سلسلتين متوازيتين من البولي ببتيدات وذلك من خلال الحامض الأميني السستين والموجود في كلا السلسلتين المتوازيتين . إن هذه الأواصر الثنائية الكبريت تكون ثابتة نسبياً وعليه لا يمكن كسرها بسهولة تحت الظروف الاعتيادية، إلا إن معاملة البروتينات بحامض البيروفورمك Performic acid ينتج عنه أكسدة هذه الأواصر الكبريتية الثنائية وكسرها، وتستعمل هذه التفاعلات لأكسدة الأنسولين وفصل السلسلتين بدون التأثير على بقية أجزاء جزيئة الأنسولين. فضلاً عن ذلك يمكن استخدام بعض العوامل المختزلة الأخرى مثل بيتا ميركابتو إيثانول β - mercaptoethanol التي لها القابلية على اختزال أصرة ثنائية الكبريت.

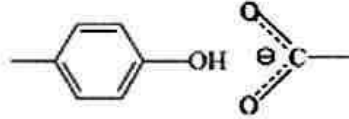
2- الأواصر الهيدروجينية **Hydrogen bonds** : تتكون الأواصر الهيدروجينية من مشاركة ذرات الهيدروجين الحامضية (المتصلة بالنيتروجين أو الأوكسجين أو الكبريت) وذرات الأوكسجين والموجودة في سلسلة متعددة الببتيد الواحدة (Intramolecular H-bond) أو في مختلف سلاسل الببتيدات (Intermolecular H-bond) (الشكل 6-7).



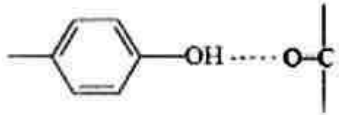
Hydrogen bond between peptide groups



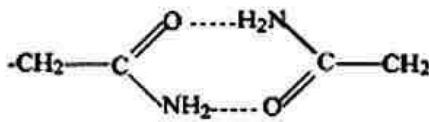
Hydrogen bond between unionized carboxyl groups



Hydrogen bond between phenolic or hydroxyl group and carboxyl groups



Hydrogen bond between phenolic or hydroxyl group and peptide carbonyl group



Hydrogen bond between side chain amide groups

الشكل (6-7) : يوضح كيفية تكوين أواصر هيدروجينية بمختلف أنواعها في جزيئة البروتين.

إن فكرة سلاسل الببتيدات على شكل ألفا - Helix بنيت على كون التركيب البروتيني الملفوف يدعم بوساطة الأواصر الهيدروجينية الموجودة فيه.

إن الأواصر الهيدروجينية الواحدة تكون ضعيفة جداً إلا أن الأعداد الكبيرة من هذه الأواصر والموجودة بكثرة داخل جزيئات البروتينات تنتج عنها قوة كبيرة تدعم وتثبت تركيب جزيئات البروتين.

3- تداخلات كارهة للماء **Hydrophobic interaction** : إن السلاسل الجانبية غير القطبية للأحماض الأمينية المتعادلة في البروتينات لها قابلية الاقتران والملازمة مع بعضها البعض في الوسط المائي، مع عدم وجود أواصر حقيقية بين هذه السلاسل غير القطبية المذكورة ومع ذلك فإن هذه التداخلات تلعب دوراً مهماً في دعم وتثبيت تركيب البروتينات.

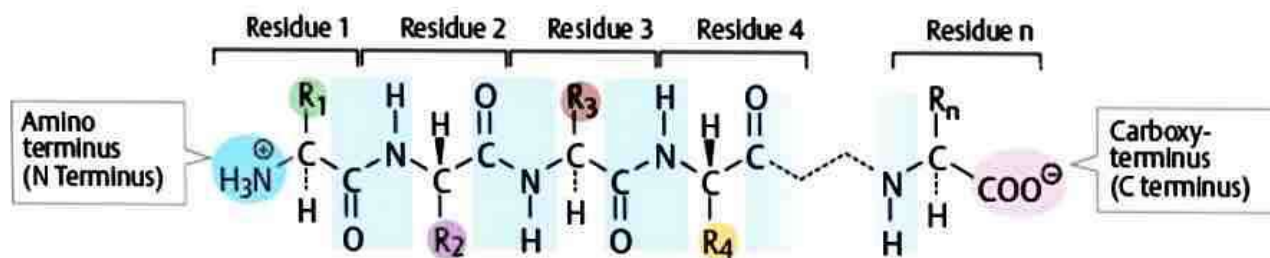
4- تجاذب قوى فاندرفال **Van Der Waals forces** : إن قوة تجاذب فاندرفال تتناسب عكسياً مع بعد المسافة بين المجموعات المتجاذبة في السلاسل الجانبية الهيدروكاربونية غير القطبية ويتم التجاذب عندما تكون المسافة بين الذرات محددة وتتناقص عندما تقتارب المسافة.

5- الأواصر الأيونية **Ionic bonds** : التي تتكون بين الأحماض الأمينية القاعدية (مثل اللايسين والأرجنين) مع الأحماض الأمينية الحامضية (مثل الأسبارتيك والكلوتاميك).

ولقد وجد هناك أربعة أنظمة تختص بتراكيب البروتينات وهي:

1- التركيب الأولي **Primary structure** يشير هذا التركيب الى نوعية وتسلسل الأحماض الأمينية في سلسلة متعدد الببتيد. ولا يشمل هذا المصطلح أي قوى أو أواصر أخرى موجودة بين الأحماض

الأمينية عدا الأواصر البيبتيدية، كما ان دراسة الأصرة البيبتيدية تدخل ضمن دراسة هذا التركيب (الشكل 6-8).



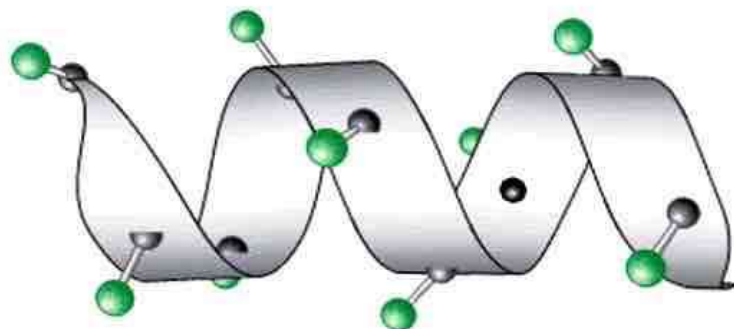
الشكل (6-8): التركيب الاولي للبروتين.

يرجى ملاحظة أن عدد الأحماض الأمينية في البروتين يعطي فكرة عامة عن حجم البروتين (الوزن الجزيئي) وقد أشار بعض الباحثين الى أن هذا العدد يمكن ان يدخل بوصفه صفة إضافية الى التركيب الأولي.

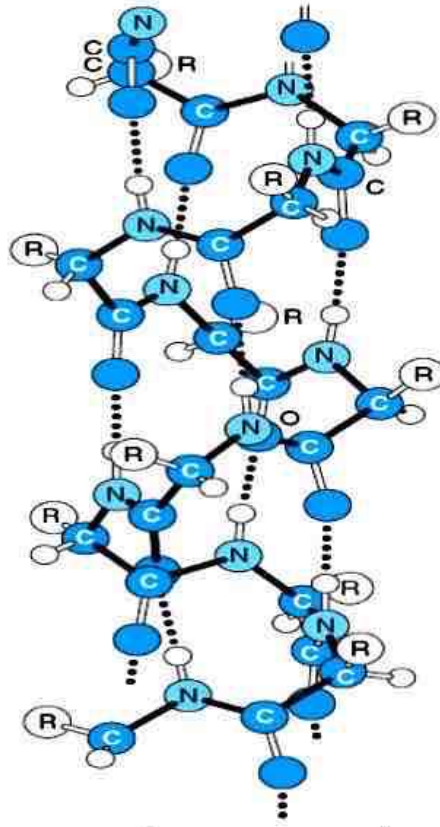
2- التركيب الثانوي Secondary structure

يتضمن التركيب الثانوي للبروتين كيفية التواء سلسلة متعدد الببتيد لتعطي أشكالاً نوعية ثابتة عن طريق الأصرة الهيدروجينية اذ بالاعتماد على نوعية الأحماض الأمينية وصفاتها الكيميائية يمكن ان تشكل خمسة نماذج من حالة الالتواء التي تشمل التركيب الثانوي وهي:

أ- المنحنى الحلزوني ألفا α - Helix : يتميز المنحنى الحلزوني بوجود 3.6 وحدة حامض أميني لكل دورة من المنحنى ويقدر قطر الحلزون بـ 10 إنكستروم ، وتبرز مجاميع R الى الخارج من العمود الفقري لمتعدد الببتيد. ان التركيب الحلزوني المتعدد الببتيد (الشكل 6-9) ناجم عن وجود الأصرة الهيدروجينية التي تربط أوكسجين الكاربونيل Carbonyl oxygen ونيتروجين الأميد Amide nitrogen (الشكل 6-10).



الشكل (6-9): يوضح التركيب الحلزوني للبروتين.



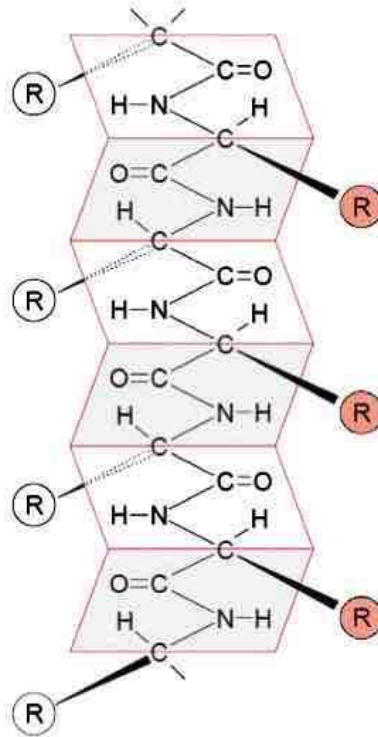
الشكل (10-6): يوضح تكوين الأواصر الهيدروجينية لغرض زيادة استقرارية التركيب الثانوي (ألفا - حلزون).

وبما ان أصرة الببتيد تتعاقب بمسافات منتظمة، لذلك فان هذه الأصرة تكون كذلك منتظمة وبالتالي فان هذا النظام يسمح للبروتين ان يأخذ شكلاً حلزونياً يدعى أحياناً الحلزون ألفا يمين الاتجاه α - Helix Right handed والذي يكون مستقراً بسبب الأصرة الهيدروجينية. وهناك الحلزون ألفا يسار الاتجاه α - Helix Left handed الذي يكون اقل استقراراً.

يعد ألفا-كيراتين α -Keratin النموذج الذي يمثل الحلزون ألفا وذلك لاحتوائه على أعداد كبيرة من سلاسل الببتيد المتعددة المرتبطة بالأصرة الهيدروجينية ولكونه غنياً بالحامض الأميني السستائين الحاوي على جسر ثنائي الكبريت المطمورة في حشوة البروتين غير الذائب.

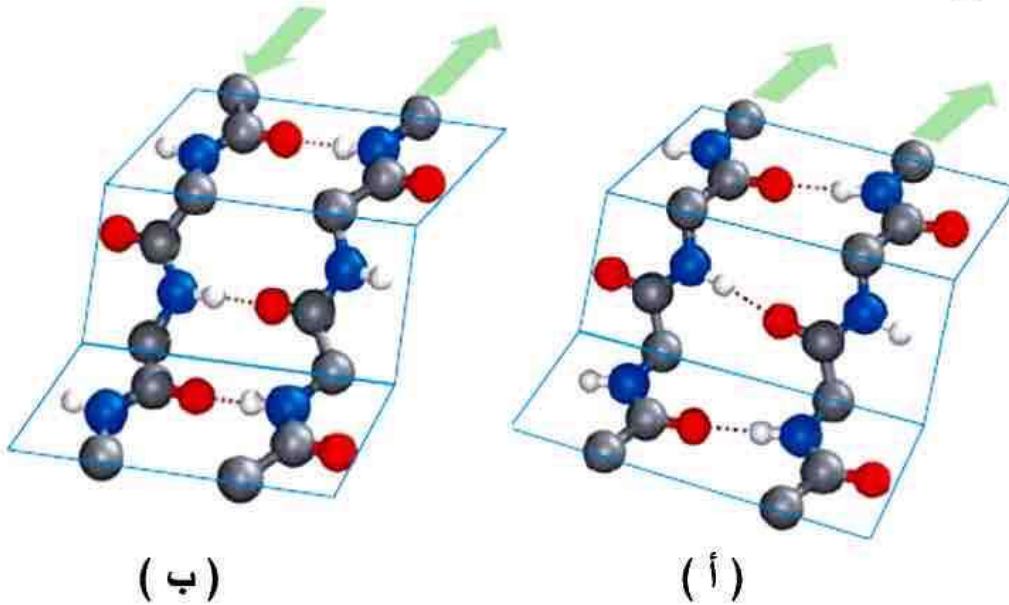
ب- الصفيحة المطوية Pleated sheet

تترتب سلاسل الببتيد على امتداد بعضها البعض لتكون اشكالاً يطلق عليها الصفائح المطوية اذ تمتد سلاسل متعدد الببتيد بأبعاد متعرجة تشبه المتعرج (الزكزاك) Zig - Zag (الشكل 11-6) وتكون هذه الصفائح مستقرة بواسطة أصرة الهيدروجين التي تربط مجموعة كربونيل CO مع مجموعة أميد NH .



الشكل (6-11): تركيب الصفحة المطوية للبروتين.

وتكون مجموعة R واقعة في أعلى الصفائح وأسفله (الشكل 6-11)، والتي تترتب السلاسل الببتيدية فيها إما باتجاه واحد أو باتجاهين متعاكسين (الشكل 6-12) بدون حصول في التزامم الكلي للمجموعات R في الأحماض الأمينية المكونة للسلاسل. ويعد تركيب الحرير الطبيعي (البروتين الليفي للحرير) نموذجاً للصفحة المطوية من نوع β - Pleated sheet .

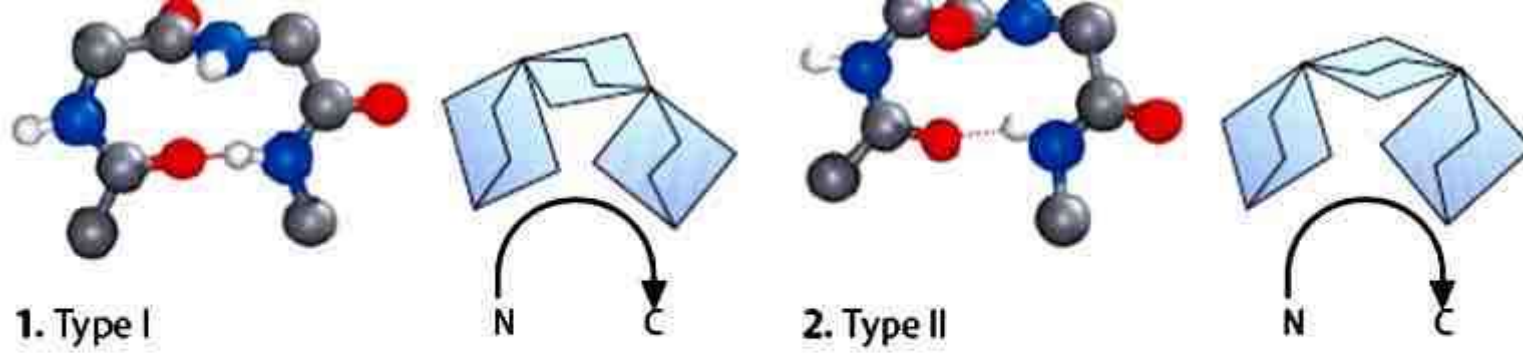


(ب)

(أ)

الشكل (6-12): الصفحة المطوية: أ - باتجاه واحد (متوازيين Parallel).

ب - باتجاهين متعاكسين (غير متوازيين Antiparallel).



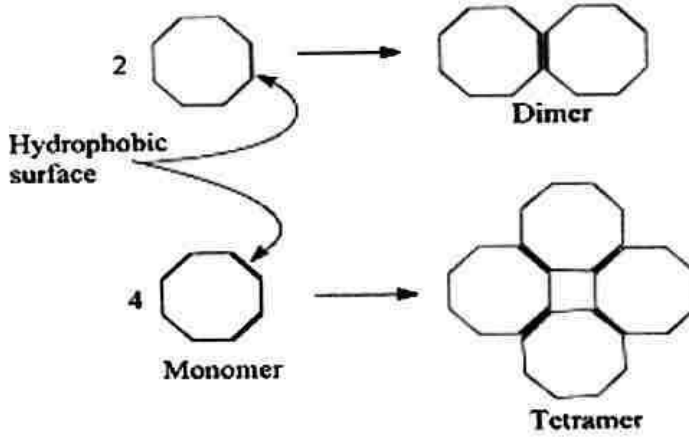
الشكل (6-15): ادوار بيتا (β - Turns) (النوع الأول والنوع الثاني).

3- التركيب الثالثي Tertiary structure

يتضمن التركيب الثالثي للبروتين البعد الثلاثي Three dimensional structure للبروتين الكروي الناجم عن تداخلات المجاميع الجانبية R- group مع بعضها، إذ تجعل سلسلة متعدد الببتيد مطوية بشدة ومكتنفة بصورة مرصوفة على هيئة كرة صوف النسيج، أو يمكن أن يعرف التركيب الثالثي بمواقع المجاميع الجانبية والهيدروجين في الفراغ بالنسبة لمستوى أصرة الببتيد. إن استقرار التركيب الثالثي يعزى إلى الروابط والقوى الموجودة في البروتين والمذكورة آنفاً. ومن الأمثلة على التركيب الثالثي للبروتين هو المايوكلوبين Myoglobin الذي يعمل على نقل الأوكسجين في العضلات، إذ يحتوي على سلسلة واحدة من متعدد الببتيد مكونة من 153 حامضاً أمينياً وعلى مجموعة الهيم Heme الحاوية على الحديد. ويوضح الشكل

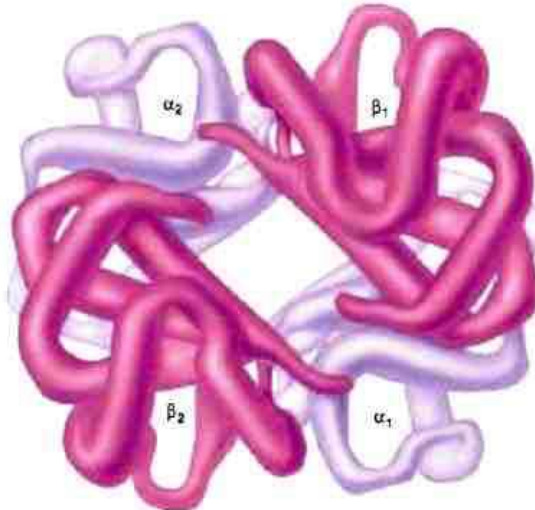
4- التركيب الرباعي Quaternary Structure

أذا احتوى متعدد الببتيد على أكثر من سلسلة ببتيدية، فإن البروتين ينتمي الى التركيب الرباعي وهذا التركيب هو ترابط مجموعة الوحدات الثانوية للبروتين Protein subunits سواء كانت متشابهة ام غير متشابهة لتكون ما يسمى الأوليكر Oligmer (أي بوليمر صغير) (الشكل 6-17).



الشكل (6-17): تكوين ثنائي Dimer او رباعي Tetramer الوحدات للبروتين.

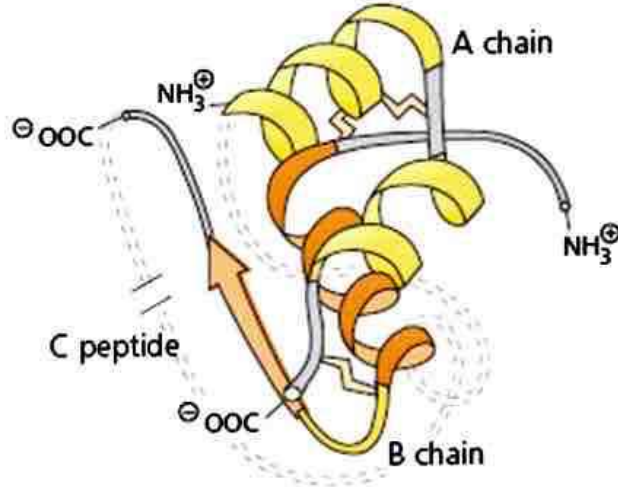
أو بعبارة أخرى فإن التداخلات بين الوحدات الثانوية للبروتين يطلق عليها بالتركيب الرباعي. ومن ناحية أخرى فإن مصطلح التركيب الرباعي يشير الى عدد وحدات البروتين التي يجب ان ترتبط مع بعضها لتكون الصيغة الفعالة لذلك البروتين من الناحية الحيوية. فمثلاً الصيغة الفعالة لإنزيم الفوسفورليز Phosphorylase تحتوي على وحدتين متشابهتين Dimeric وفي حالة فصل هاتين الوحدتين عن بعضها لا يظهر الإنزيم أي فعالية حيوية ويسمى هذا النوع من التركيب الرباعي المتجانس Homogenous quaternary structure أما إذا كانت الوحدات غير متشابهة كما في فايروس موزاييك التبع اذ يتحد الحامض النووي مع البروتين ليكون الفايروس الفعال فيسمى بالتركيب الرباعي غير المتجانس Heterogeneous quaternary structure. ومن الأمثلة على التركيب الرباعي المتجانس هو جزيئة الهيموكلوبين التي تتألف من أربع سلاسل من الببتيد (أربع وحدات بروتينية)، اثنتين ألفا واثنتين بيتا ($\alpha_2\beta_2$) تتداخل مع بعضها بواسطة الأواصر والقوى الموجودة في البروتين (الشكل 6-18) لتعطي شكلاً رباعي السطوح.



الشكل (6-18): التركيب الرباعي للهيموكلوبين.

2- التركيب الثانوي Secondary Structure

وهي الهيئة التي تعمل الأواصر الهيدروجينية على زيادة استقرار الأتسولين وإن ترتيب الحلزون ألفا هو الأكثر اذ يشكل نسبة أكثر من 57% من الجزيئة و 6% يشكل الصفيحة المطوية بيتا β -pleated sheet و 10% من نوع ادوار بيتا β -turns بينما 27% ولا يمكن التمييز والتحديد من أنواع التراكيب الثانوية لها (الحلزون العشوائي) (الشكل 20-6).



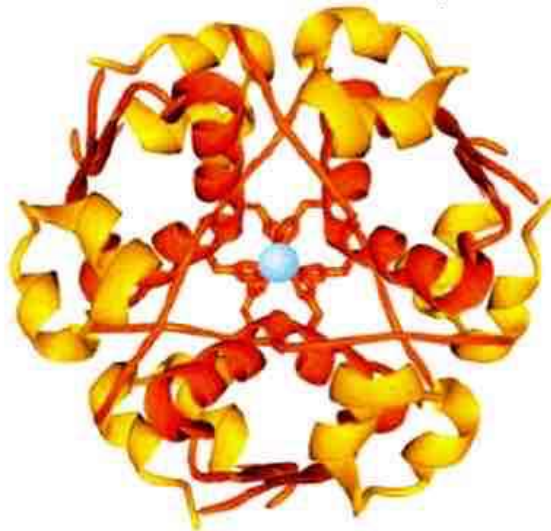
الشكل (20-6): التركيب الثانوي والثالثي للأنسولين.

3- التركيب الثالثي Tertiary Structure

يكون التركيب الثالثي في الأنسولين بشكل مضغوط وعلى هيئة وتد Wedge إذ أن رأس الوتد متكون من قبل سلسلة B للأنسولين الذي يغير اتجاهه في هذه النقطة (الشكل 20-6).

4- التركيب الرابعي Quaternary Structure

يشكل الأنسولين تراكيب رابعة أيضاً في الدم، إذ يوجد بشكل وحتنين Dimer فضلاً عن ذلك فإنه يوجد بشكل سداسي الوحدات Hexamers والذي يستقر من خلال أيونات الخارصين (Zn^{++}) اذ يخزن في البنكرياس على هذه الهيئة (الشكل 21-6).

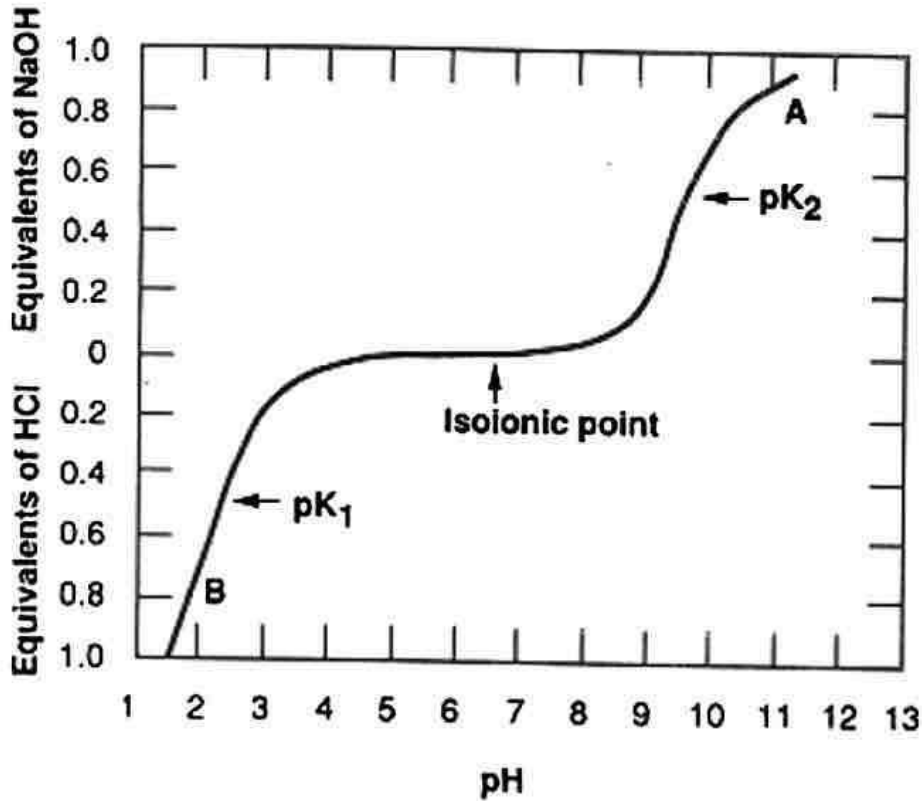


الشكل (21-6): التركيب الرابعي للأنسولين.

ذوبانية البروتينات Solubility of proteins

البروتينات تحتوي على مجاميع مختلفة من الحامضية - القاعدية وبالتالي فهي تختلف في الذوبانية بالاعتماد على عدة عوامل منها: تراكيز الأملاح المذابة وقطبية المذيب والأس الهيدروجيني pH ودرجة الحرارة. وفيما يأتي وصف للعوامل المؤثرة على ذوبانية البروتينات:

1- تتأثر درجة الذوبانية للبروتينات كثيراً بقيمة pH نظراً لسلوكها الأمفوتيري. إذ إن درجة الذوبانية تكون عند أدنى مستوياتها (ازدياد ترسيب البروتين) في نقطة التعادل الكهربائي Isoelectric point pI (نقطة التعادل الكهربائي هي تلك الـ pH التي تكون فيها محصلة الشحنة على البروتين صفراً ولا تتحرك في المجال الكهربائي) (الشكل 22-6) وتزداد كلما ابتعدنا عن هذه النقطة في الاتجاهين الحامضي أو القاعدي.



الشكل (22-6): المنحني التسحيحي باستخدام تراكيز مختلفة للحامضية.

ف عند نقطة التعادل الكهربائي تكون قوى التنافر الإلكتروستاتيكي Electrostatic repulsion forces بين جزيئات المذاب على أذناها وتكون قوى التشابك البلورية Crystal - lattice forces للحالة الصلبة على أعلاها (زيادة الترسيب) إلا أن معظم الجزيئات الأمفوتيرية توجد إما على هيئة أنيونات (سالبة) أو كاتيونات (موجبة) وأن قوى التنافر بين الأيونات تكون كبيرة لأن جميع الجزيئات تمتلك شحنات كثيرة من

تغيير الحالة الطبيعية للبروتين (المسخ) Denaturation

يتضمن المسخ التغييرات التي تطرأ على جزيئة البروتين من النواحي الفيزيائية والكيميائية والخواص الحياتية وبالتالي يؤدي الى تغيير حالتها الطبيعية والتي تنتج عنها فقدان الصفات الفسيولوجية للبروتين فمثلاً تفقد الإنزيمات من فعاليتها. ان العوامل المسببة لمسخ البروتين تشمل تعرض البروتين الى:

156

درجات حامضية او قاعدية عالية جداً تحطم الأواصر الهيدروجينية في البروتين، درجات حرارية عالية، الموجات فوق الصوتية Ultrasonic vibration، أملاح المعادن الثقيلة مثل أملاح أيونات الفضة Ag^+ او الزئبق Hg^{++} (الأيونات التي يمكن ان تتحد مع مجموعات SH وترسيب البروتين)، الأشعة فوق البنفسجية UV او الأشعة السينية X-ray او رج البروتين وتحريك محلوله المائي بقوة (على سبيل المثال تكوين رغوة في محلول البروتين المائي)، تراكيز عالية من المركبات كاليوريا، وكوريد الكواندينوم (هذه المركبات تعمل على تحطيم الأصرة الهيدروجينية)، تعرض البروتين الى مذيبات عضوية مثل الأسيتون والإيثانول (حتى عند درجات حرارية واطنة)، تحطيم البروتينات من خلال سحقه وتحطيم الأواصر الببتيدية، أما بعض التغييرات التي تطرأ على البروتين نتيجة للمسخ فهي:

- 1- انخفاض قابلية الذوبان للبروتين.
- 2- تغييرات في التراكيب الداخلية للبروتين وكذلك في عملية ترتيب الأواصر الببتيدية مع عدم حصول تكسير لها. فمثلاً فقدان تركيب ألفا حلزون α -Helix احد تراكيب الثانوية للبروتين.
- 3- زيادة الفعاليات الكيميائية ومجاميع الثايلول Sulfhydryl group والقابلية الأيونية للبروتين.
- 4- سهولة تحلله بوساطة الإنزيمات المحللة Proteolytic enzymes.
- 5- فقدان جزئي او كلي للفعالية البايولوجية الأصلية.

إن إرجاع البروتين المسخ Denatured protein الى وضعه الطبيعي يتوقف على عدة عوامل منها: طبيعة تركيب البروتين والمدة الزمنية التي تعرض اليها البروتين الممسوخ وعمق المسخ ونوعية العامل المسبب للمسخ. طبيعياً المسخ حالة غير عكسية بالرغم من ان هناك بعض الاستثناءات على سبيل المثال:

- 1- مسخ الهيموكلوبين بحامض قوي وإعادته الى حالته الطبيعية بوساطة معاملته تحت ظروف ملائمة.
- 2- المسخ الحراري لإنزيم رايبونيوكليز المستخلص من البنكرياس الذي يمكن إعادته إلى حالته الطبيعية Renatured بالتبريد (الشكل 23-6).