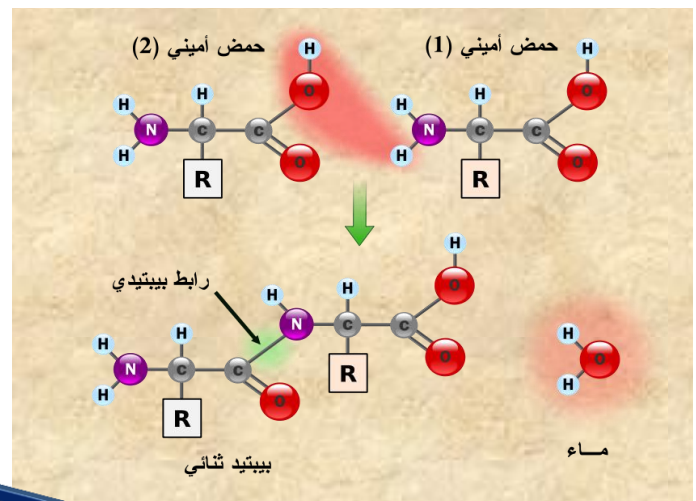
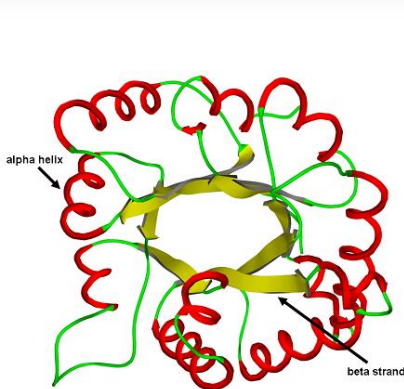
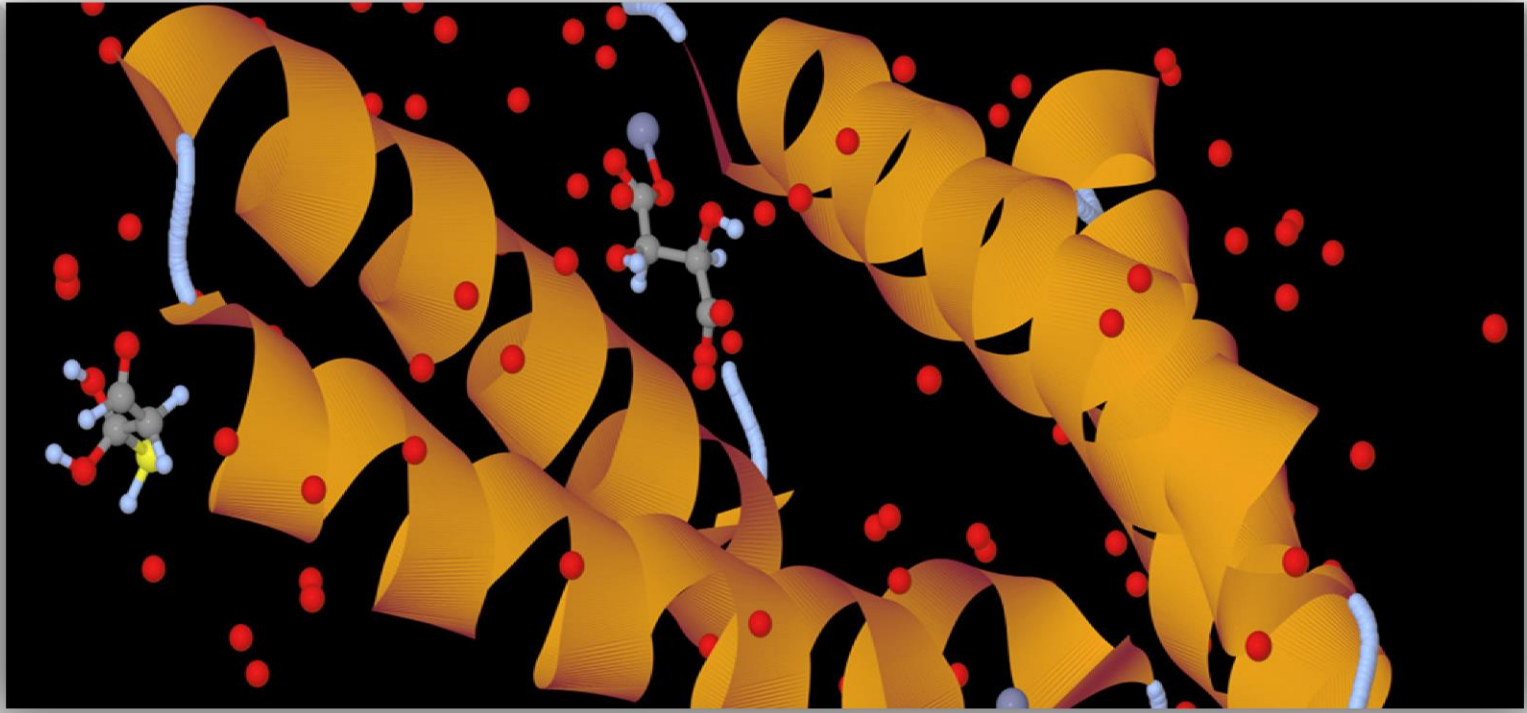


الخصيلة المعرفية

الوحدة 2 : العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين

www.bac35.com

www.facebook.com/bac35



اعداد

الأستاذ : بوالريش أحمد

متقن القل

تلعب البروتينات دورا رئيسيا كمادة بنائية للعضوية من جهة و كعنصر أساسي جد متخصص وظيفيا (إنزيمات، هرمونات ، أجسام مضادة...) من جهة أخرى، يعود هذا التخصص الوظيفي إلى اكتسابها بنية فراغية محددة .

الإشكالية :

فما هي العلاقة بين البنية الفراغية للبروتين وتخصصه الوظيفي؟

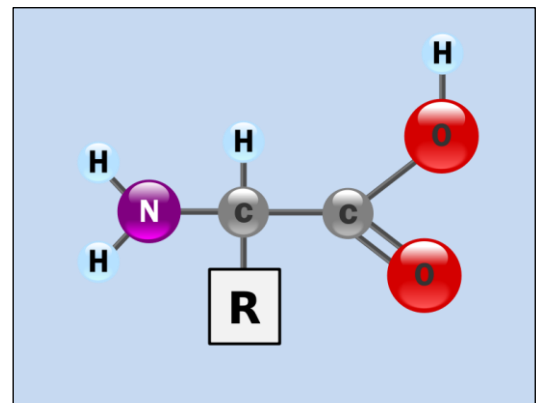
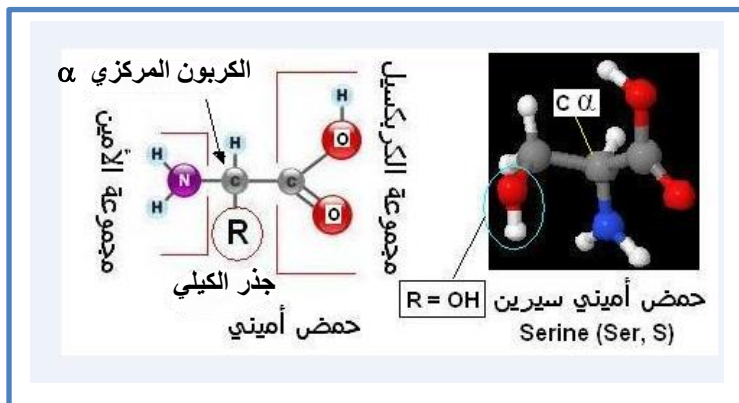
I - العلاقة بين البنية الفراغية للبروتين وتخصصه الوظيفي

1 - الأحماض الأمينية :

" ترجع البنية الفراغية للبروتين إلى عدد ، طبيعة وتتالي الأحماض "

الإشكالية : ماهي مميزات وخصائص الأحماض الأمينية التي قد تسمح لنا بتحديد البنية الفراغية للبروتين؟

أ - تعريف الحمض الأميني :



الأحماض الأمينية مركبات عضوية تتكون جميعها من جزئين:

جزء ثابت : مشترك بين جميع الأحماض الأمينية يحتوي على وظيفتين هما :

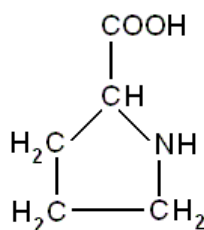
❖ وظيفة كربوكسيلية (حمضية) : COOH -

❖ وظيفة أمينية (قاعدية) : NH_2 -

ترتبط الوظيفتين على مستوى الكربون المركزي α .

- **جزء متغير من حمض أميني إلى آخر:** أي خاص بكل حمض أميني يدعى الجذر الألكيلي و يرمز له بالحرف (R)

معلومة مفيدة



proline

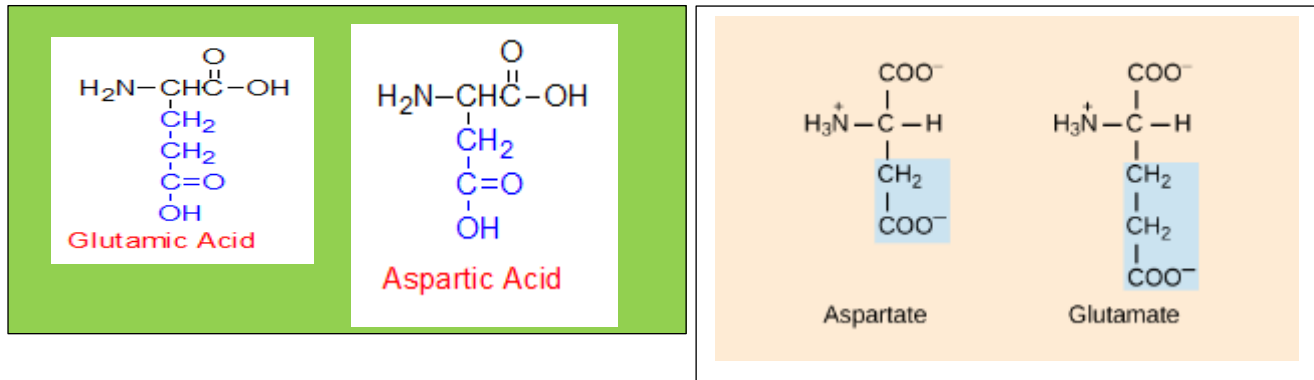
كل حمض أميني له مجموعة R تميزه عن الأحماض الأمينية الأخرى، وهذه المجموعة تكون منفصلة عن المجموعة الأمينية (المرتبطة بذرة الكربون α) إلا في حالة الحمض الأميني برولين فإن السلسلة الجانبية R والمجموعة الأمينية تكونان جزءاً من حلقة واحدة مشتركة.

ب - تصنيف الأحماض الأمينية :

الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب البروتينات عدده 20 حمض أميني من نوع ألفا (α) هناك عدة طرق لتصنيف الأحماض الأمينية أهمها تلك التي تعتمد على محتوى السلسلة الجانبية (الجذر الألكيلي) من مجموعات قاعدية أو حامضية ، وتقسم الأحماض الأمينية تبعا لذلك إلى 3 أقسام أساسية:

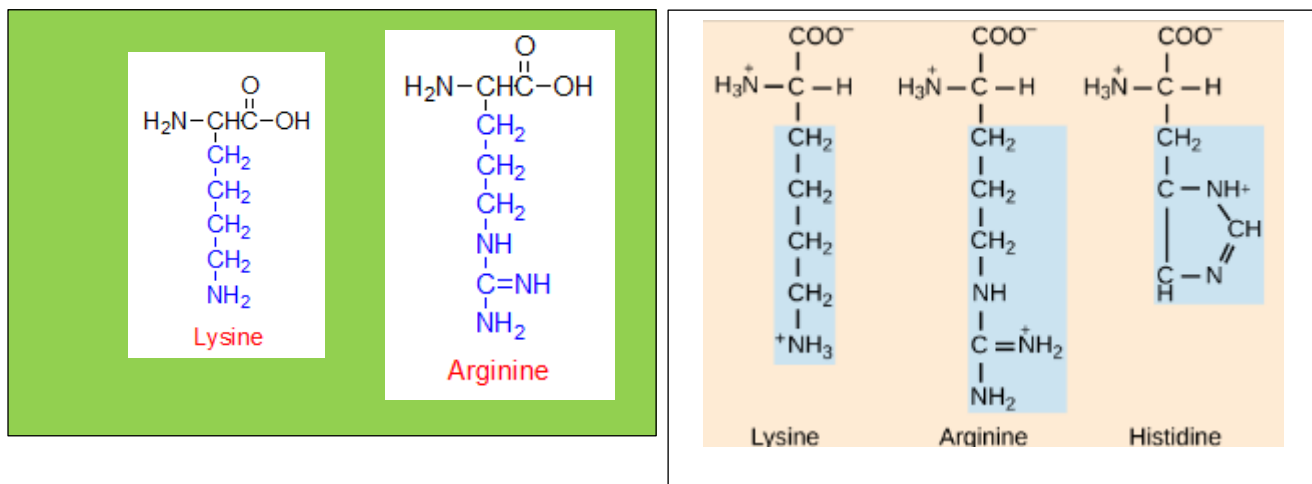
أحماض أمينية حمضية :

تتميز هذه الأحماض بإحتوائها على مجموعة حمضية في السلسلة الجانبية وهي : حمض الأسبارتيك Asp وحمض الغلوتاميك Glu.



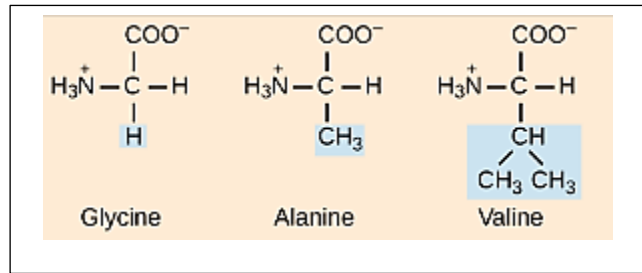
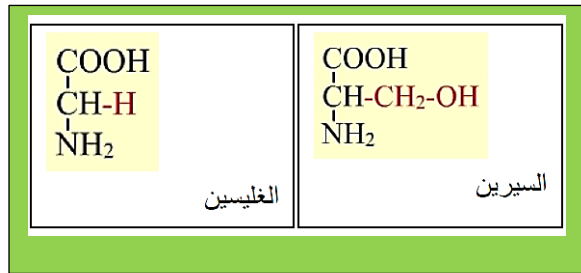
أحماض أمينية قاعدية :

تتميز بوجود مجموعة قاعدية إضافية في الجذر R وهي : الليزين Lys و الأرجنين Arg والهستيدين His.

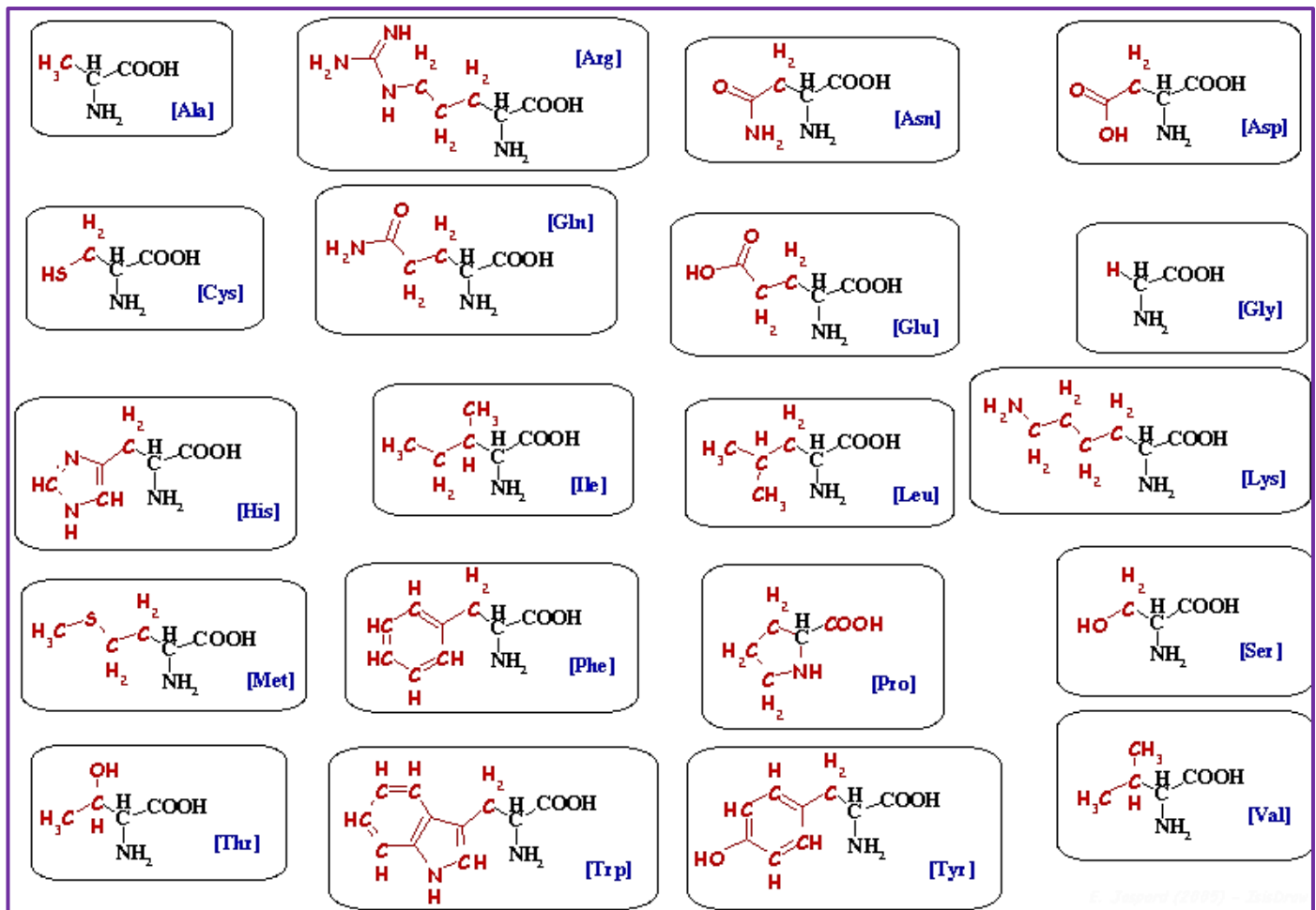


أحماض أمينية متعادلة :

تتميز بعدم وجود مجموعة قاعدية أو حمضية في الجذر R وهي الأحماض أمينية المتبقية. مثل :

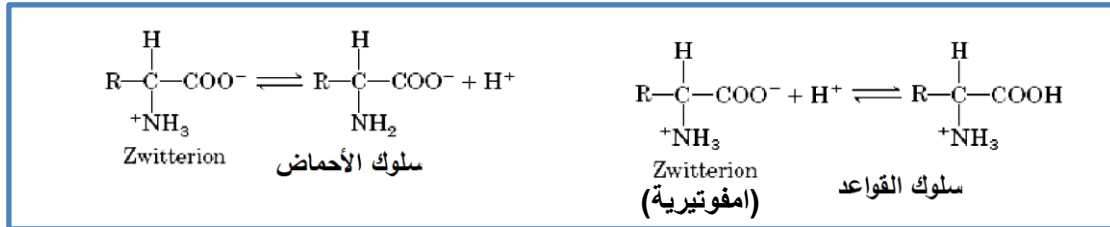


الصيغ الكيميائية لـ 20 حمض أميني



جـ - سلوك الأحماض الأمينية في الوسط :

إن احتواء الحمض الأميني على وظائف كربوكسيلية و أمينية تمكنه من تغيير سلوكه حسب تغيرات درجة حموضة الوسط (pH). وأن هجرة الحمض الأميني في المجال الكهربائي تعتمد على نوع الشحنة التي يكتسبها. تكون الأحماض الأمينية في المحاليل ذات pH المتعادل على شكل أيون ثنائي القطبية (dipolar ion أو Zwitterion). وتكون مجموعة الأمين موجبة الشحنة (NH_3^+) ومجموعة الكربوكسيل سالبة الشحنة (COO^-). (تتغير هذه الشحنة بتغير pH الوسط ، كما تحتوي الأحماض الأمينية القاعدية والحمضية على شحنات إضافية في السلسلة الجانبية (R) .



تسلك الأحماض الأمينية سلوك الأحماض (تعطي بروتونات) وسلوك القواعد (تكتسب بروتونات) وذلك تبعا لدرجة pH الوسط ، لذلك تسمى الأحماض الأمينية بالمركبات الحمضية (امفوتيرية).

تعريف نقطة التعادل الكهربائي:

هي قيمة من PH عندها يكون الحمض الأميني متعادل كهربائيا (عدد الشحنات الموجبة يساوي عدد الشحنات السالبة)، أي محصلة الشحنات الموجبة والشحنات السالبة معدومة (0) .

أمثلة : يلخص الجدول التالي الأحماض الأمينية العشرون و الـ pH الموافقة لها.

pHi	الحمض الأميني	pHi	الحمض الأميني
5.24	ميثيونين	6	فالين
5.68	سيرين	6.06	غليسين
5.60	تريونين	7.64	هستيدين
5.02	سيسستين	2.98	ح أسبارتيك
5.63	تيروزين	6.11	ألانين
5.41	اسبارجين	6.04	لوسين
5.65	غلوتامين	6.04	إيزولوسين
3.08	ح الغلوتاميك	6.30	برولين
9.74	ليزين	5.91	فينيل ألانين
10.76	أرجنين	5.88	تريتوفان

قاعدة تسمح بتحديد شحنة الحمض الأميني بمقارنة PH مع قيمة PHi :

pHi > pH : شحنة الحمض الأميني تكون موجبة (+) :

✓ تأين إحدى المجموعتين الوظيفيتين ألا وهي المجموعة الأمينية (NH_3^+) فيصبح الحمض الأميني أحادي القطب يحمل شحنة كهربائية موجبة بسبب إكتساب هذا الأخير بروتون من الوسط ، فيهاجر الحمض الأميني إلى القطب السالب .

pHi < pH : شحنة الحمض الأميني تكون سالبة (-) :

✓ تأين الوظائف الكربوكسيلية (COO^-) يفقدها بروتونات في الوسط، الحمض الأميني يهاجر إلى القطب الموجب

pHi = pH : محصلة شحنة الحمض الأميني معدومة (0) :

✓ عدم انتقال الحمض الأميني في المجال الكهربائي باتجاه أي من القطبين (الموجب و السالب) . بتأين المجموعتين الوظيفيتين ، حيث تحمل الوظيفة الكربوكسيلية شحنة كهربائية سالبة (COO^-) و الوظيفة الأمينية شحنة كهربائية موجبة (NH_3^+) و هذا يعني أن مجموع الشحنات الكهربائية للحمض الأميني تساوي الصفر أي متعادلة كهربائيا ، لذلك يسلك الحمض الأميني هذا سلوك شاردة ثنائية القطب.

يمكننا تحديد نوع الشحنة بمقارنة PHi للحمض الأميني مع pH الوسط.

pH < PHi الوسط الحمض الأميني موجب الشحنة (+)

pH > PHi الوسط الحمض الأميني سالب الشحنة (-)

pH = PHi الوسط الحمض الأميني متعادل الشحنة (0)

❖ تزداد الشحنة الموجبة أو السالبة كلما زاد الفرق بين قيمت PHi وقيمة pH

مثال: PHi لحمض His هي 7.58 ولحمض Lys هي 10.

تكون الشحنة الموجبة لـ His أقل من Lys عند $\text{pH} = 7$.

لأن الفرق بين PHi و His أقل.

❖ عند تحديد مواقع الأحماض الأمينية المفصولة بطريقة الهجرة الكهربائية نحتاج إلى معرفة نوع الشحنة وكذا

قوة الشحنة خاصة إذا كانت الأحماض الأمينية تتجه إلى نفس القطب

أهمية دراسة شحنة الأحماض الأمينية

أهمية في المختبر:

■ فصل الأحماض الأمينية

■ أهمية طبيعية في وظيفة البروتين:

■ بطريقة غير مباشرة في الحفاظ على استقرار البنية الفراغية وبالتالي الحفاظ على الوظيفة

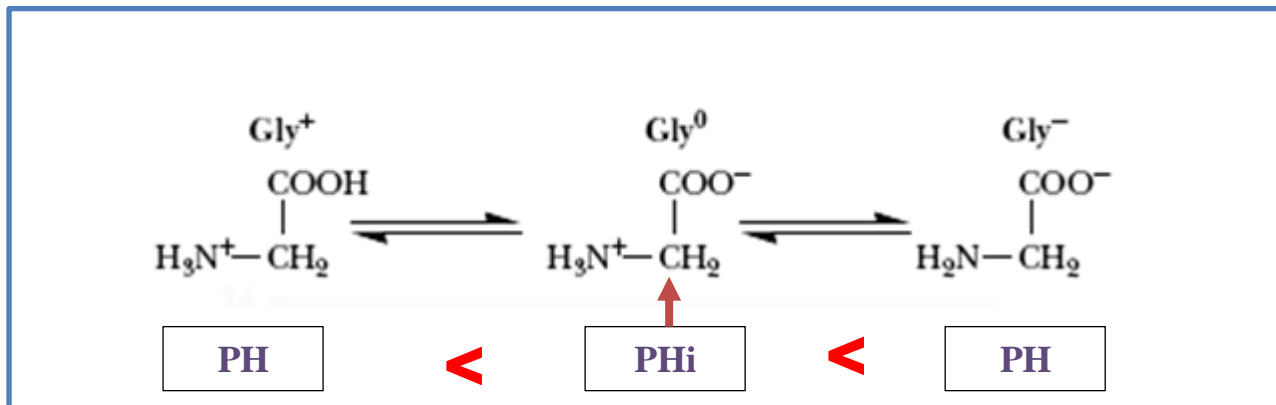
■ بطريقة مباشرة في وظيفة بعض البروتينات والإنزيمات مثلا في الارتباط بين الإنزيم ومادة

التفاعل

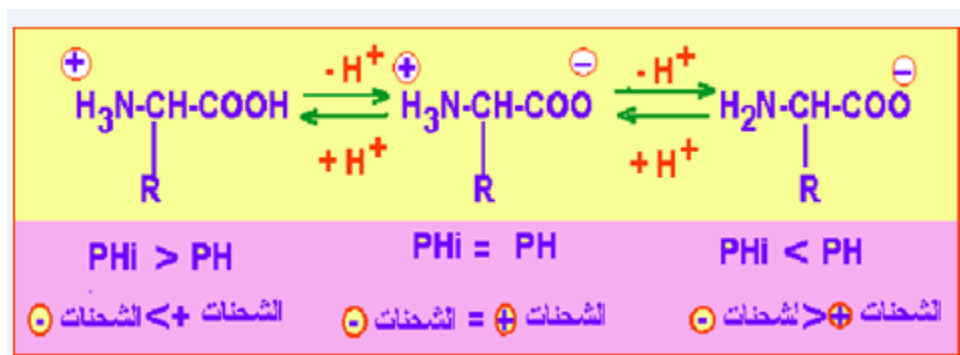
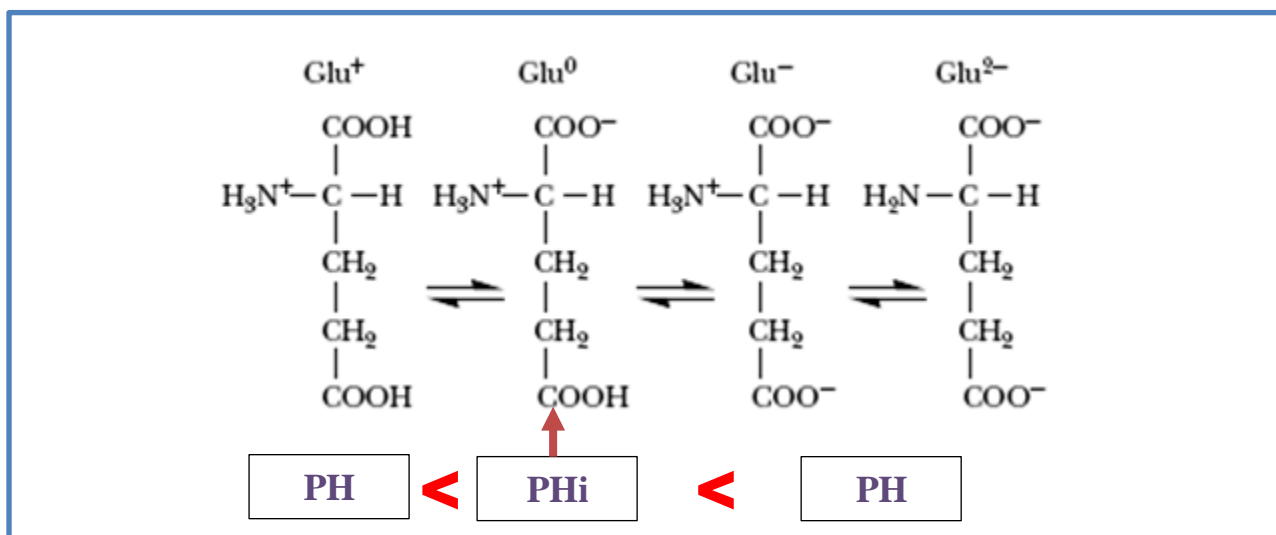
لذلك تتأثر وظيفة البروتينات كثيرا أو تفقد عند تعير pH الوسط

أمآلة :

الغلافسن Gly :



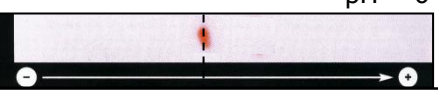


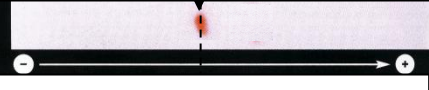


أمد الغلوتاأمك Glu :



تطبيق :

التجربة : تعتمد هذه التجربة على تقنية الهجرة الكهربائية .

نضع في حوضي الجهاز (الوثيقة 3) ماء مقطر و نصلهما بطرفي شريط من ورقة الأسيتات (حتى تتبلل بمحتوى الحوضين) نضع بها قطرة من حمض أميني معين ثم نغير درجة حموضة الوسط (pH) و ذلك بإضافة حمض أو قاعدة ، نوصل بعد ذلك محلول الحوضين بمسريين (إلكترودين) أحدهما متصل بالقطب الموجب و الثاني بالقطب السالب لمولد كهربائي و في الأخير نمرر التيار الكهربائي و نسجل الجهة التي أنتقل إليها الحمض الأميني .
النتائج المحصل عليها ممثلة في الوثيقة التالية :

النتائج : بعد 45 دقيقة	بداية التجربة
<p>pH = 6</p> 	<p>قطرة من حمض أميني : فالين</p> 
<p>pH = 9.72</p> 	
<p>pH = 2.29</p> 	

1 - حلل النتائج المحصل عليها .

2 - بالإستعانة بمعارفك في الكيمياء حول المحاليل المائية الشاردية :

أ - فسر هذه النتائج مدعما إجابتك بالصيغة الكيميائية للحمض الأميني في كل حالة .

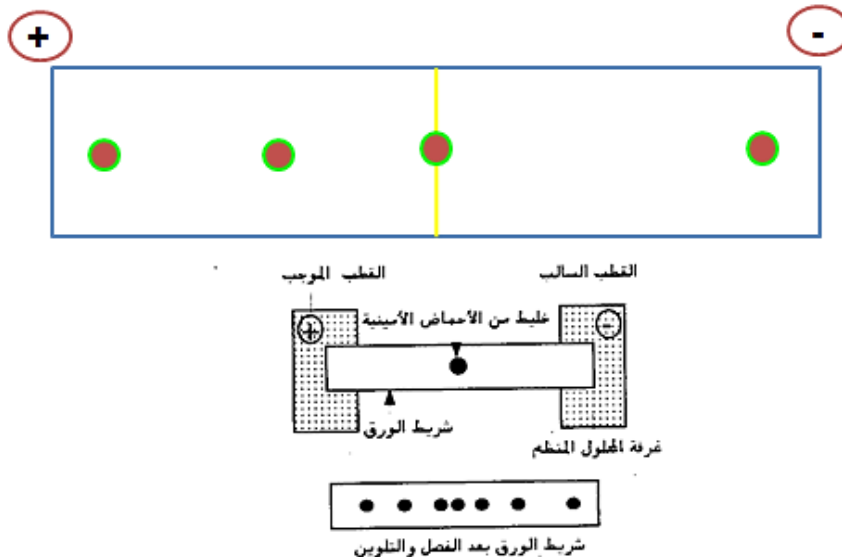
ب - ماذا تستنتج ؟

معلومة مفيدة

الهجرة الكهربائية

طريقة لفصل الأحماض الأمينية حسب الشحنة.

تتجه الأحماض الأمينية الموجبة نحو القطب السالب والسالبة نحو الموجب وتبقى الأحماض الأمينية ذات الشحنة المتعادلة في المنتصف.



تصحيح التطبيق :

1 - التحليل :

في $pH = 6$: نلاحظ عدم إنتقال الحمض الأميني إلى إي من القطبين .

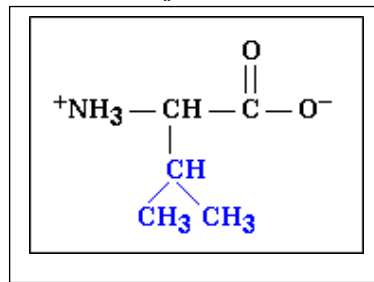
في $pH = 9.72$: نلاحظ إنتقال الحمض الأميني إلى القطب الموجب .

في $pH = 2.29$: نلاحظ إنتقال الحمض الأميني إلى القطب السالب .

2 - أ - التفسير :

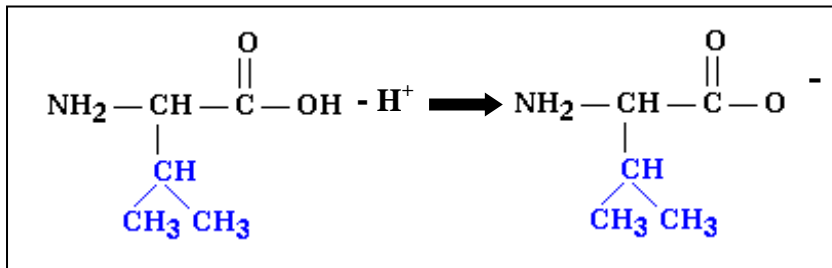
نفسر عدم انتقال الحمض الأميني في المجال الكهربائي باتجاه أي من القطبين (الموجب و السالب) عند درجة حموضة الوسط (6) بتأين المجموعتين الوظيفيتين ، حيث تحمل الوظيفة الكربوكسيلية شحنة كهربائية سالبة (COO^-) و الوظيفة الأمينية شحنة كهربائية موجبة (NH_3^+) و هذا يعني أن مجموع الشحنات الكهربائية للحمض الأميني تساوي الصفر أي متعادلة كهربائيا و يرمز لها بـ pH_i ، لذلك يسلك الحمض الأميني هذا سلوك شاردة ثنائية القطب .

- الصيغة العامة للحمض الأميني في $pH = 6$

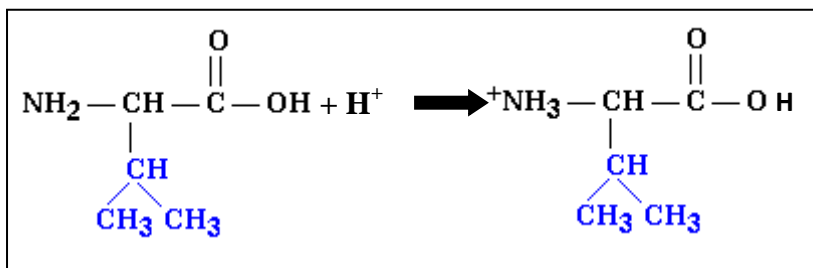


- نفسر إنتقال الحمض الأميني باتجاه القطب الموجب (الأنود) عندما أصبح pH الوسط أكبر من 6 أي يساوي 9.72

بتشرد المجموعة الكربوكسيلية (COO^-) حيث أصبح الحمض الأميني أحادي القطب لكنه يحمل في هذه المرة شحنة كهربائية سالبة لأنه قام بدور مانح أو معطي للبروتونات فتخلّى عن البروتون .



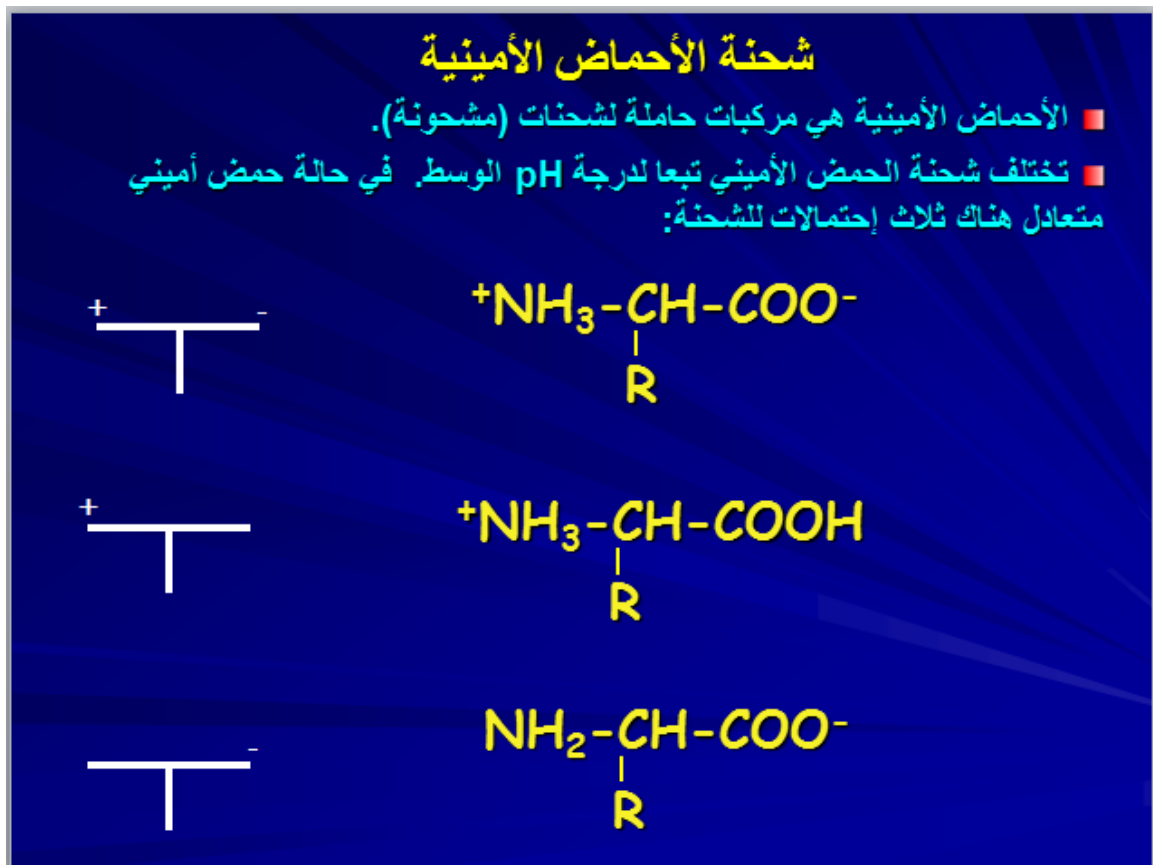
- نفسر إنتقال الحمض الأميني باتجاه القطب السالب (الكاتود) عندما تغير pH الوسط وأصبح يساوي 2.29 أي وسط حمضي (و وسط غني بالبروتونات) بتأين إحدى المجموعتين الوظيفيتين ألا وهي المجموعة الأمينية (NH_3^+) (فيصبح الحمض الأميني أحادي القطب يحمل شحنة كهربائية موجبة بسبب إكتساب هذا الأخير بروتون من الوسط ،

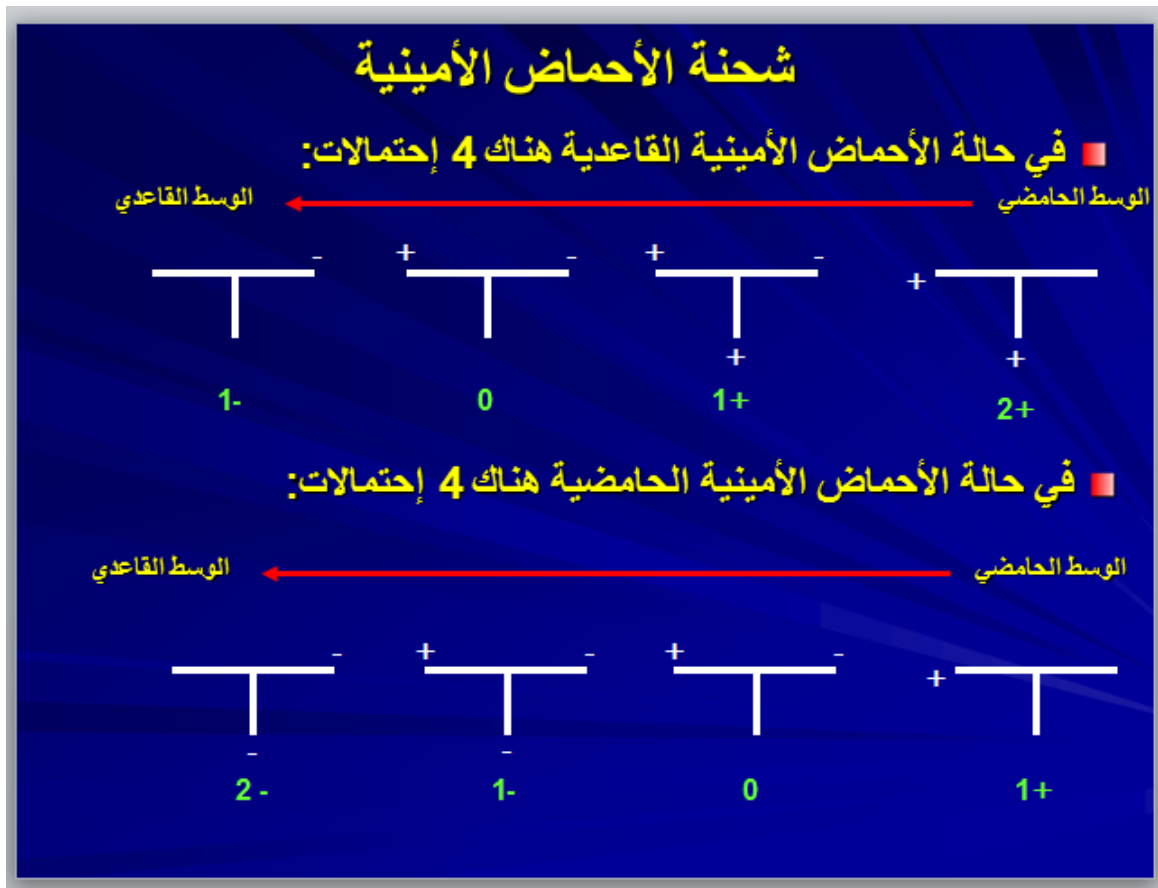


ب - الإستنتاج :

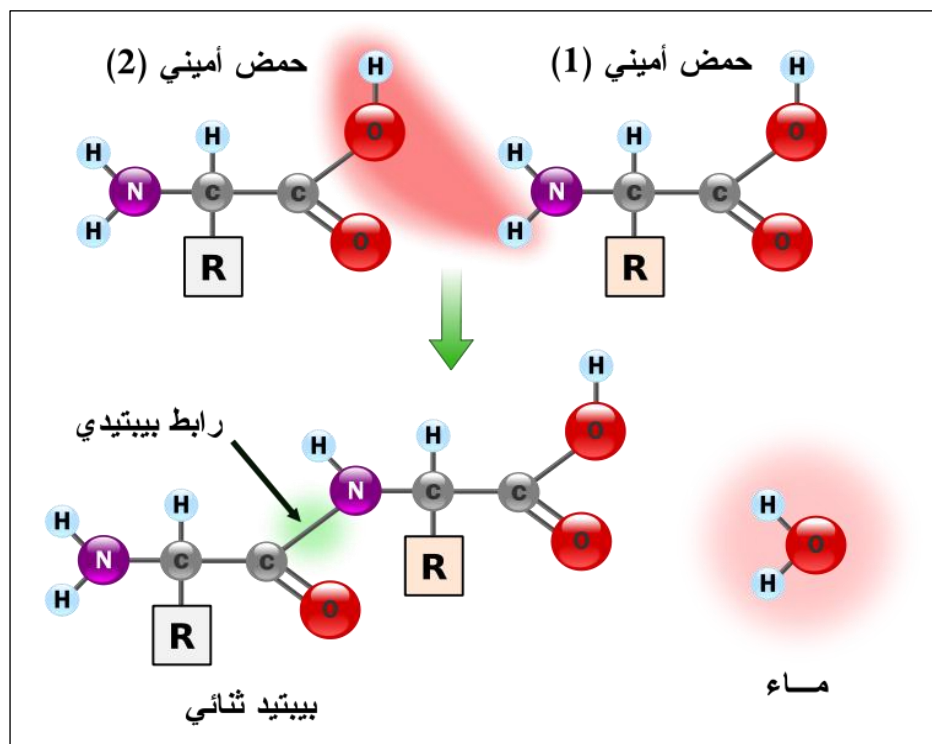
يتغير سلوك الحموض الأمينية و بالتالي البروتينات حسب pH الوسط ، فهي تتسلك سلوك القاعدة في الوسط الحمضي بإستقبالها لبروتون أو بروتونات وتتسلك سلوك الحمض في الوسط القاعدي بتخليها عن البروتون أو بروتونات لذلك تسمى أجسام حمضية أو أمفوتيرية .

معلومات مفيدة



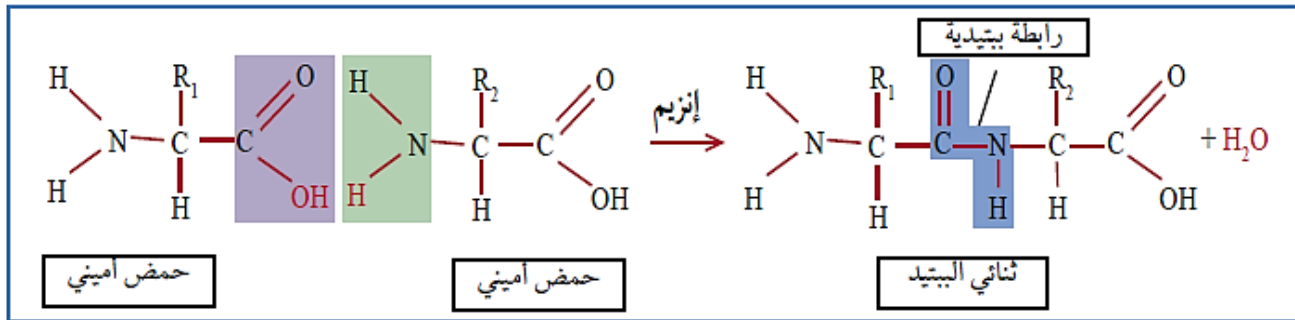


2 – تشكل الرابطة الببتيدية:



كيفية ارتباط الأحماض الأمينية مع بعضها :

نظرا لوجود الوظيفتين الحمضية والأمينية في الأحماض الأمينية فإنهما تتحدان مع بعضهما مع فقد جزيئة ماء وذلك بإتحاد المجموعة الكربوكسيلية لحمض أميني مع المجموعة الأمينية للحمض الأميني الموالي مشكلة رابطة ببتيدية.



مفهوم الرابطة الببتيدية :

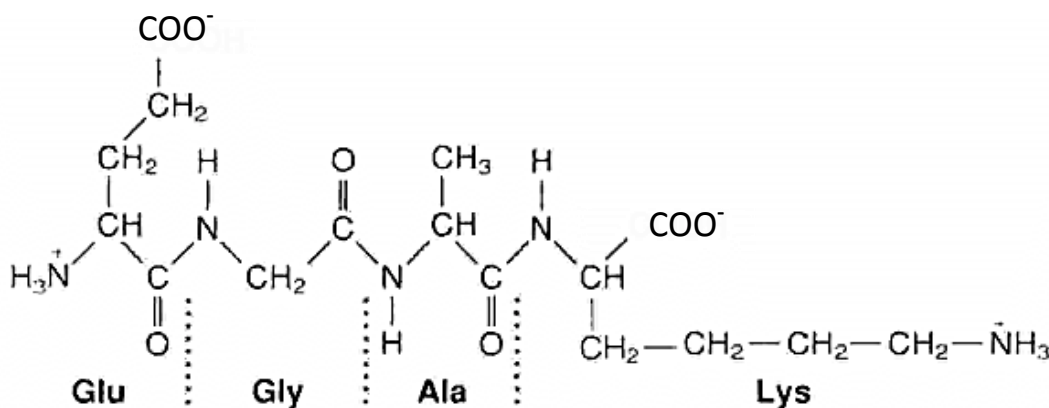
هي رابطة تكافؤية قوية بين حمضين أمينيين متتاليين و تتشكل بين المجموعة الكربوكسيلية للحمض الأميني الأول مع المجموعة الأمينية للحمض الأميني الموالي مع فقد جزيئة ماء.

شحنة الببتيد والبروتين

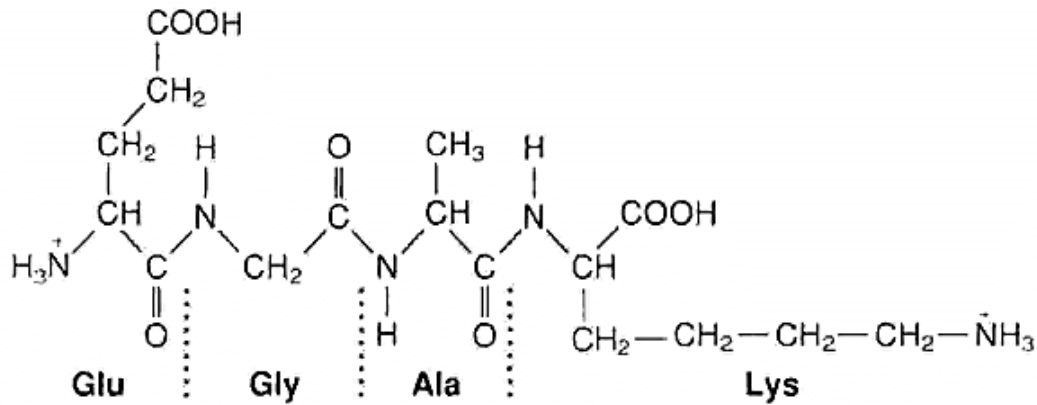
- ❖ لشحنة البروتين أهمية كبيرة في الحفاظ على بنية ووظيفة البروتين مثل تكوين بعض أنواع الروابط المتدخلة في استقرار البنية الثالثية والرابعة للبروتين وكذلك في ارتباط مادة التفاعل وسير التفاعل عند الإنزيمات.
- ❖ تنتج شحنة الببتيد من شحنة الأحماض الأمينية المكونة له.
- ❖ تملك السلسلة الببتيدية مهما كان طولها ونوع الأحماض الأمينية المكونة لها نهاية أمينية واحدة ونهاية كربوكسيلية واحدة.
- ❖ لذلك تختلف شحنة الببتيد حسب نوع الجذور . بما أن جذور الأحماض الأمينية المتعادلة لا تملك أي شحنة فإن شحنة الببتيد تعتمد على الجذور الحامضية والقاعدية.
- ❖ لكل ببتيد أو بروتين قيمة pH_i تكون عندها شحنة الببتيد أو البروتين متعادلة (عدد الشحنات السالبة = الموجبة)
- ❖ يمكن تحديد هذه القيمة مخبريا بوضع الببتيد في مجال كهربائي عند درجات pH مختلفة وتحديد قيمة pH التي لا يتحرك فيها الببتيد أو البروتين.

مثال

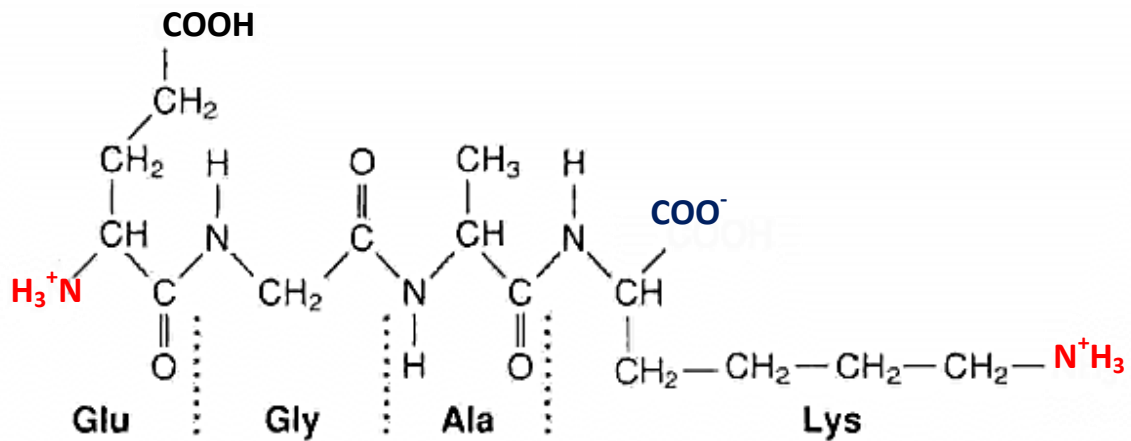
❖ شحنة رباعي الببتيد (متعادل الشحنة) عند $pH = 7.0$: جزيئ شحنته (0)



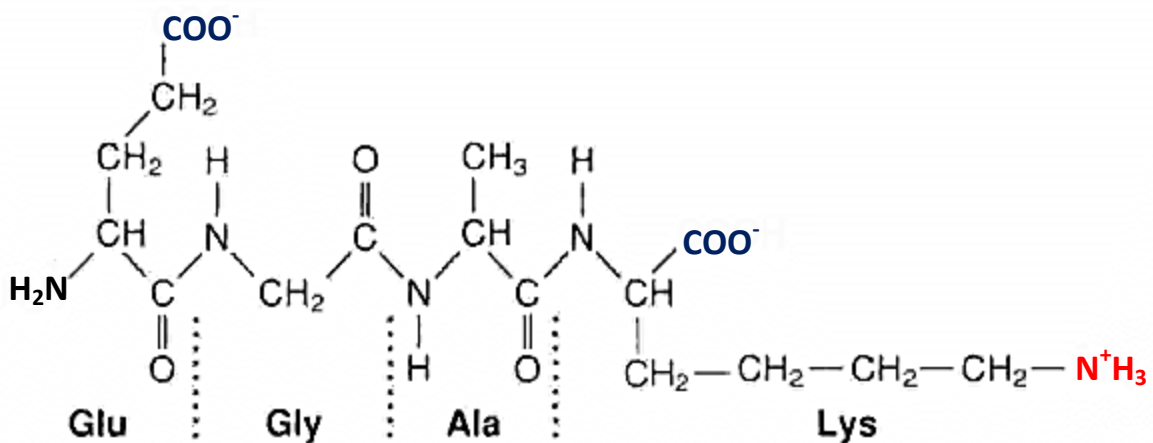
شأنا ربالل البللأ عأد $\text{PH} = 0.0$: أزلل شأنا (2+)



شأنا ربالل البللأ عأد $\text{PH} = 3.0$: أزلل شأنا (1+)



شأنا ربالل البللأ عأد $\text{PH} = 9.8$: أزلل شأنا (-1)



معلومات مفيدة : لها علاقة ببعض الوحدات التعليمية :

الخواص الكيميائية للأحماض الأمينية:

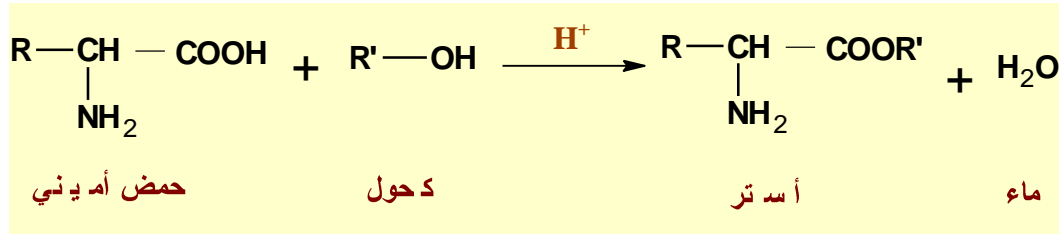
✓ بالإضافة إلى تفاعلات مجموعتي الكربوكسيل و الأمين ، هناك تفاعلات خاصة بالسلسلة الجانبية لبعض الأحماض الأمينية.

أ (الخواص الناتجة عن المجموعة الكربوكسيلية:

تمتلك الأحماض الأمينية نفس الخواص الأساسية للأحماض العضوية .

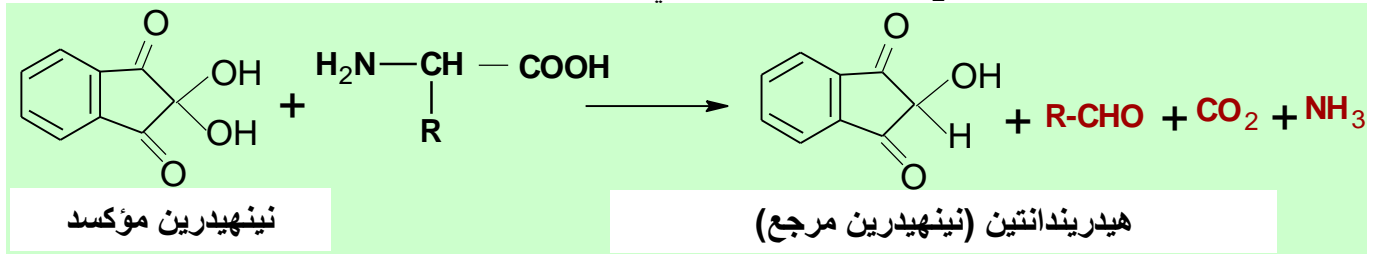
أ. 1. تفاعل الأسترة:

تتشكل أسترات في وسط حمضي قوي مع كحول وفقا للتفاعل العام الآتي:



أ. 2. التفاعل مع النينهيدرين:

النينهيدرين مؤكسد قوي يؤدي إلى تشكيل الألدهيد عن طريق تفاعل نزع مجموعة التأكسدية للأحماض الامينية وتحرير النشادر و غاز CO₂، وفقا للتفاعل الآتي:

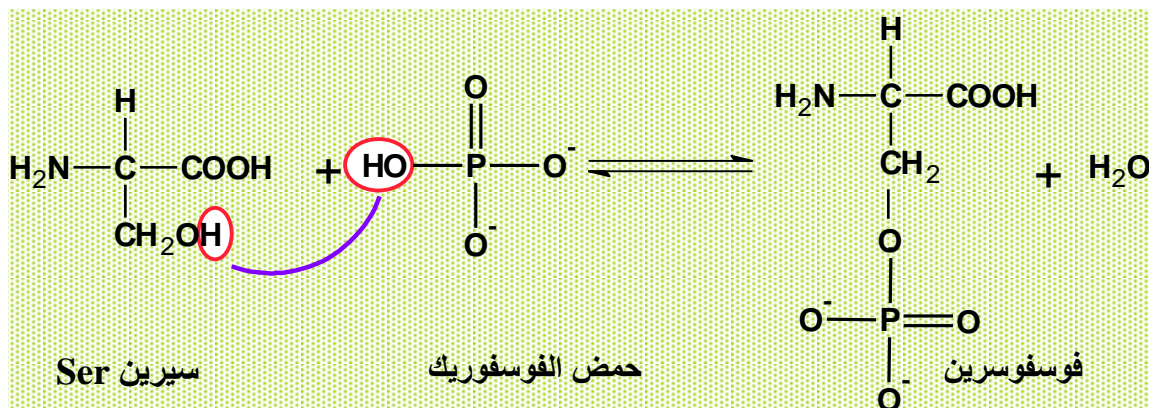


يتفاعل الهيدريدانتين الناتج مع جزيئه أخرى من النينهيدرين و الـ NH₃ ليعطي مركب أزرق بنفسجي يستغل هذا التفاعل في الفصل الكروماتوغرافي و المعايير التلوينية للأحماض الأمينية

ب - الخواص الناتجة عن السلسلة الجانبية:

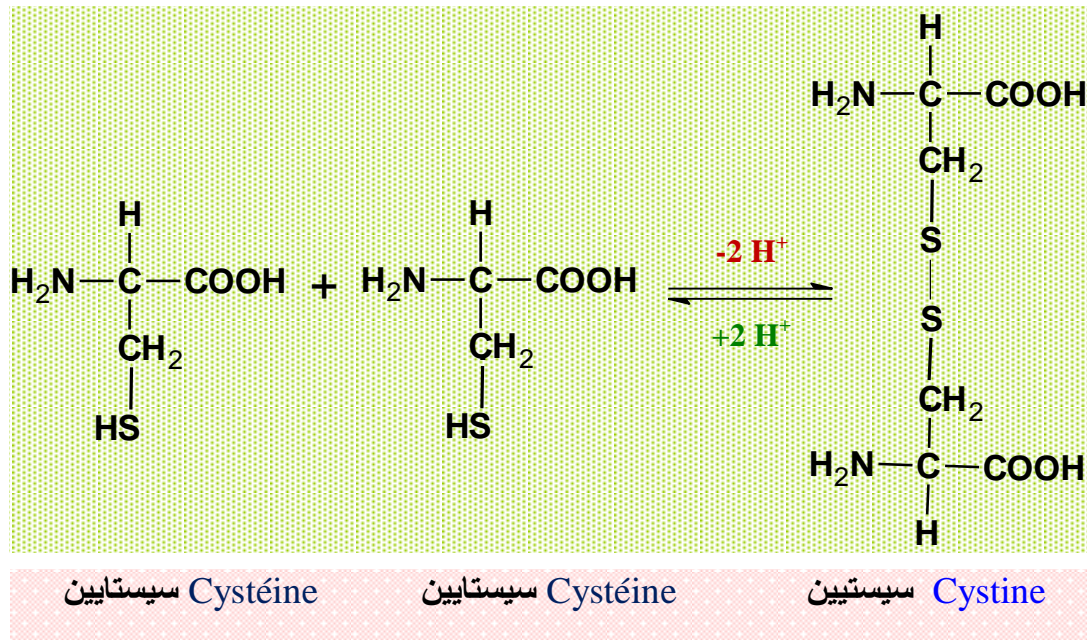
تسمح الطبيعة الكيميائية للسلسلة الجانبية بحدوث تفاعلات مختلفة مثل تكوين الأملاح، الأكسدة و الإرجاع، الألكلة تكوين الإيثرات و الأميدات و الفسفرة و السلفنة
لدراسة الخواص الناتجة عن السلسلة الجانبية نتناول المثالين الآتيين:

1- تفاعل مجموعة OH لحمض Ser مع حمض الفوسفوريك وتكوين فوسفوسرين



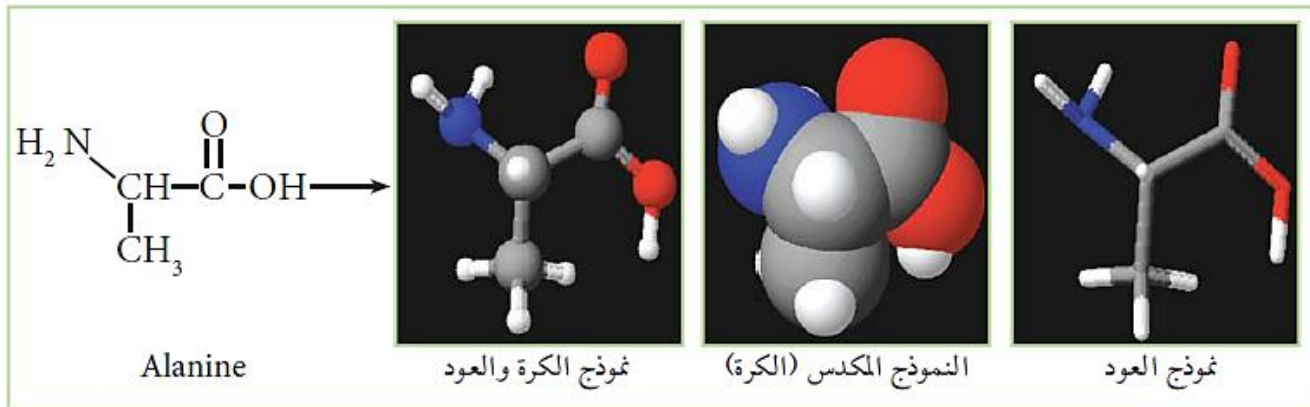
يكتسي هذا التفاعل أهمية في تنظيم عمل الكثير من الإنزيمات التي تحتوي في موقعها النشط على **Ser** إذ يتحول الإنزيم من الصورة غير النشطة إلى الصورة النشطة بعملية الفسفرة أو العكس.

2- تفاعل أكسدة مجموعة **SH** لحمض **Cys** وتكوين جسر ثنائي الكبريت ويلعب هذا التفاعل دورا في الحفاظ على التركيب البنائي لبعض البروتينات مثل الأنسولين و الغلوبولينات المناعية.

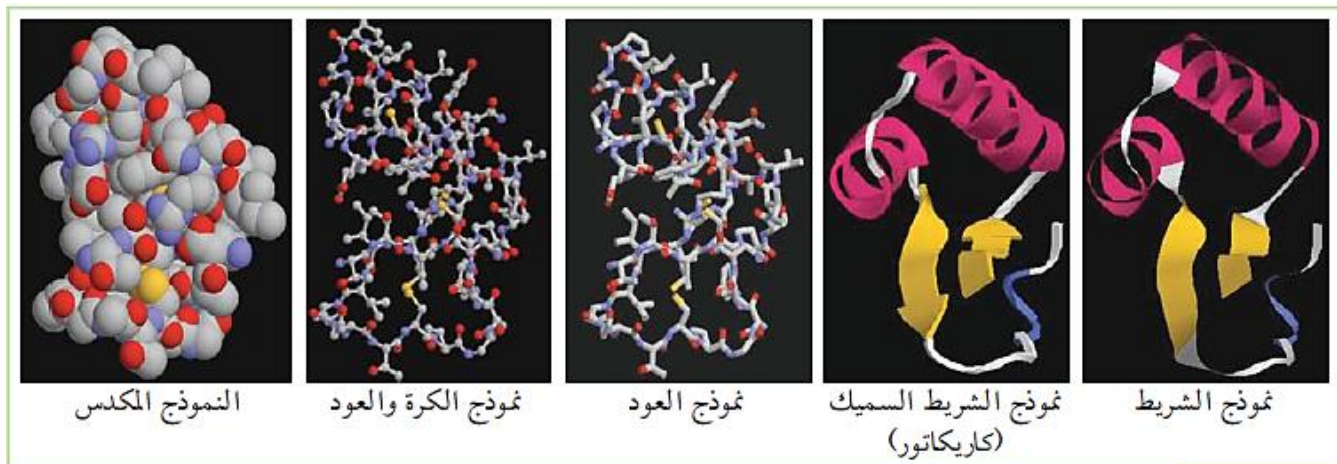


II – تمثيل البنية الفراغية للبروتين

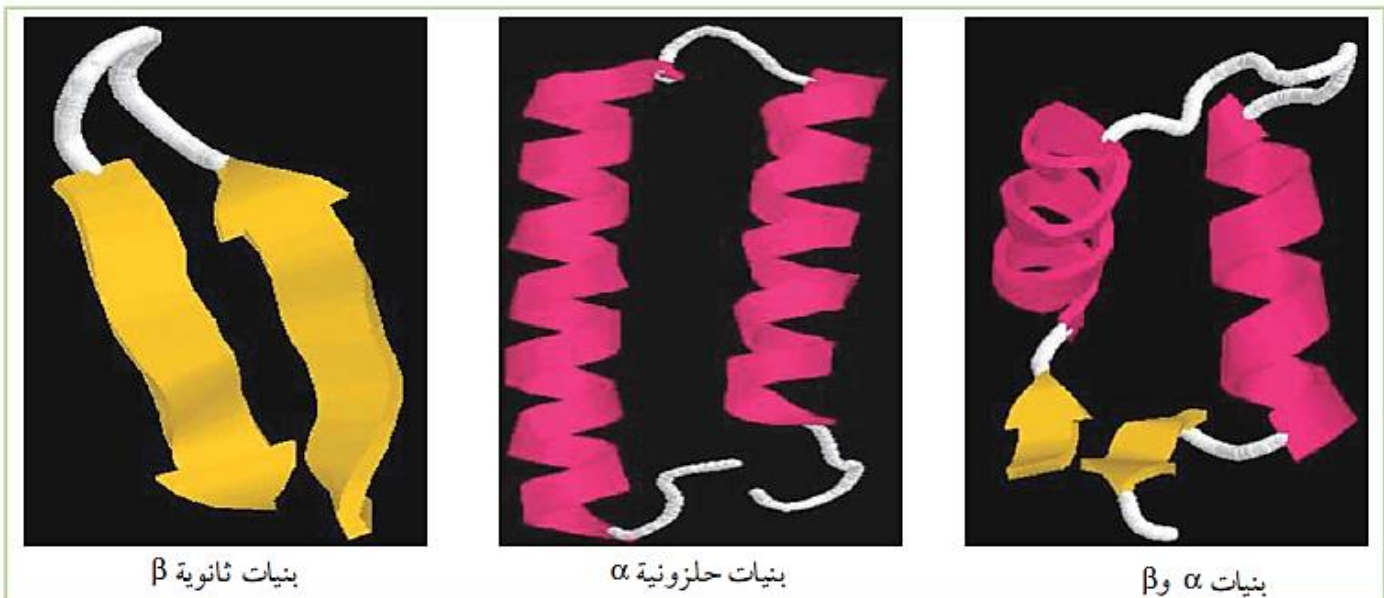
1 – تمثيل البنية الفراغية للجزيئات البسيطة : الجزيئات البسيطة مثل الأحماض الأمينية



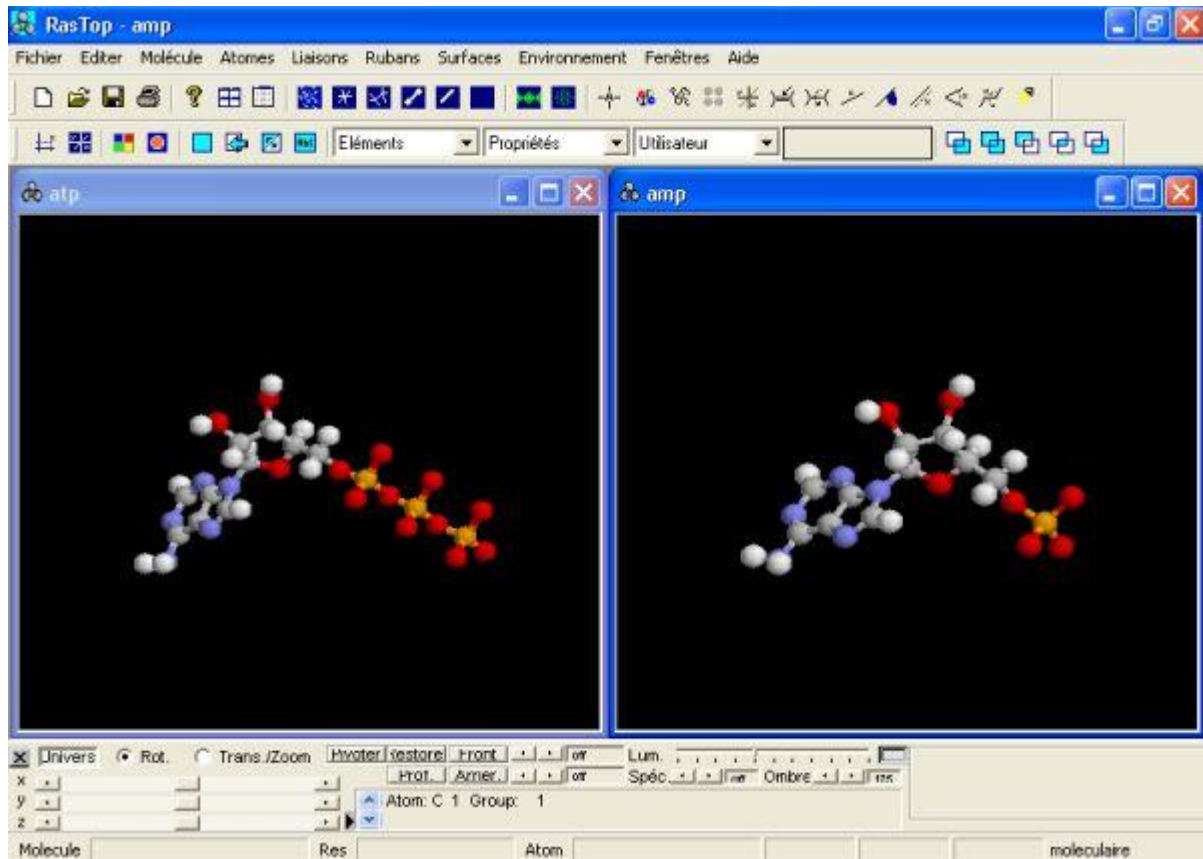
2 – تمثيل البنية الفراغية للجزيئات الكبيرة : مثل الأحماض البروتينات



3 – استعمال الكمبيوتر في دراسة بناء البروتينات : برنامج راستوب Rastop



برنامج راستوب RASTOP



- برنامج راستوب Rastop هو أحد البرامج المستعملة في عرض ودراسة البنية الفراغية للجزيئات الحيوية وخاصة منها البروتينات..
- يعرض برنامج Rastop على الشاشة الجزيئات في أبعادها الثلاثة

خصائص برنامج راستوب RASTOP

- عرض البنية الفراغية للجزيئات على الشاشة (بروتينات ، أحماض نووية) وتحديد وضعيتها في الفراغ .
- تغيير عرض الجزيئة باستعمال أزرار العرض من النافذة الرئيسية .
- عرض عدة جزيئات على نفس النافذة .
- التعرف على تركيب وخصائص البروتينات .
- يعرض جميع ملفات البروتينات التي تكون على شكل ملف PDB .

أهمية استعمال برنامج راستوب RASTOP

- يسمح لنا البرنامج بتغيير طريقة تمثيل البنية الفراغية للبروتينات (النموذج) وباستعمال نمودجين في آن واحد
- يسمح لنا باجراء دراسة مفصلة لبنية البروتين

- يسمح لنا بتحديد مواقع الاحماض الأمينية داخل البنية الفراغية وربط العلاقة بين موقع الحمض الأميني والبنية الفراغية.
- يسمح بتحديد الموقع الفعال وطريقة ارتباط البروتين أو الانزيم بمادة التفاعل.

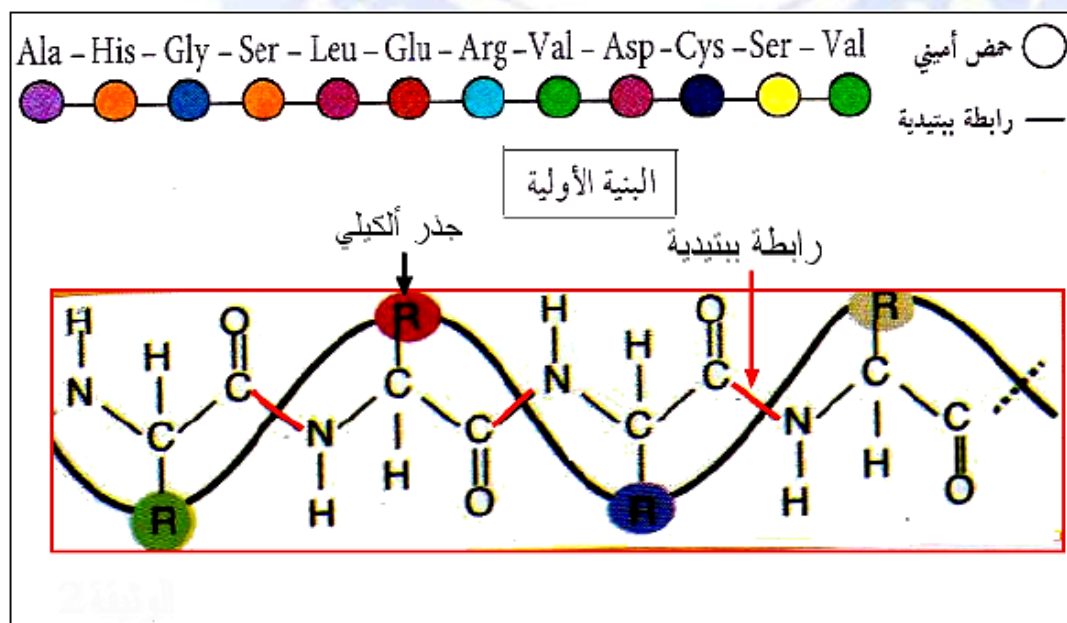
III - مستويات البنية الفراغية للبروتينات

لكل بروتين بنية فراغية محددة بدقة متناهية ، هذه البنية هي المسؤولة عن وظيفة هذا البروتين. أي تغير في البنية الفراغية يؤدي إلى فقدان الوظيفة.

نظرا لتعقيد البنية الفراغية للبروتينات قام العلماء بوصف أربعة مستويات بنيوية متدرجة في تعقدها وهذه المستويات هي :

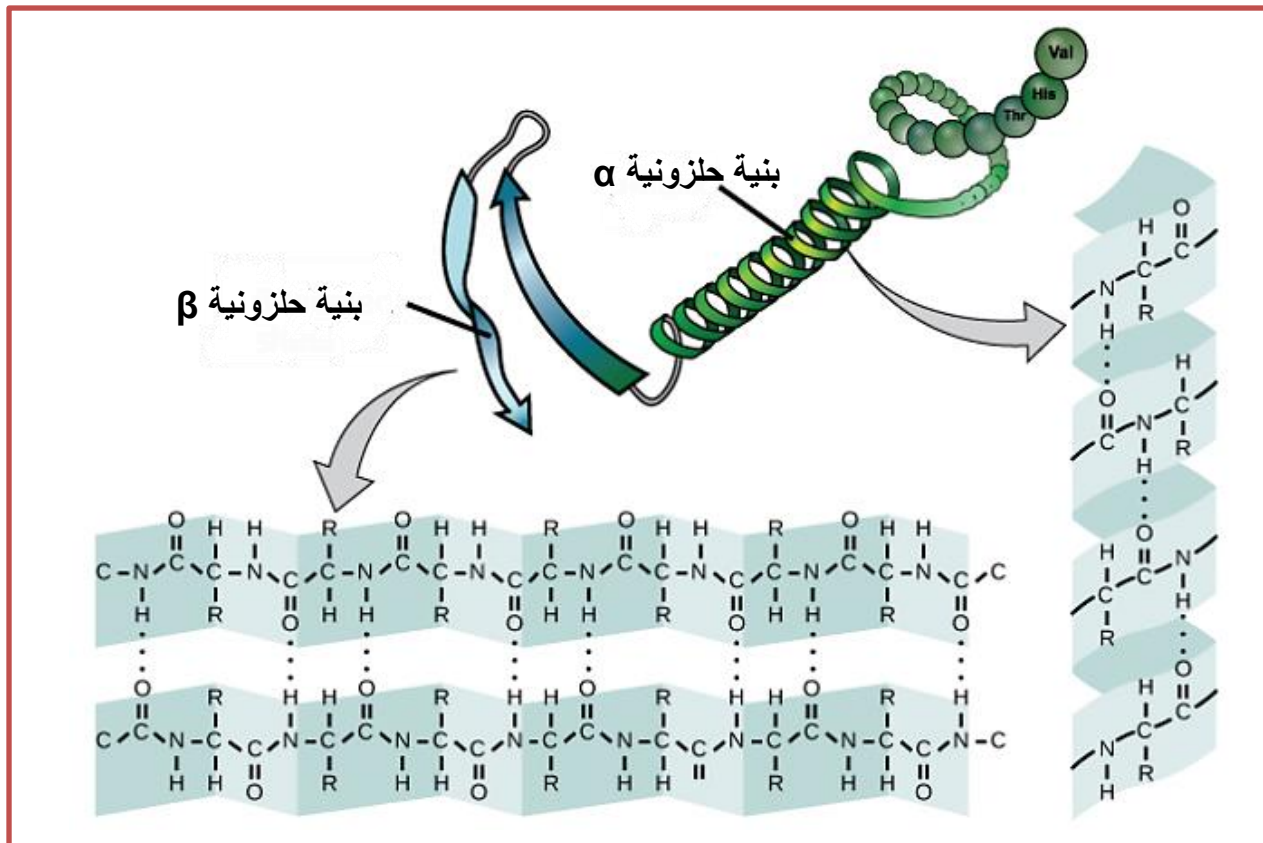
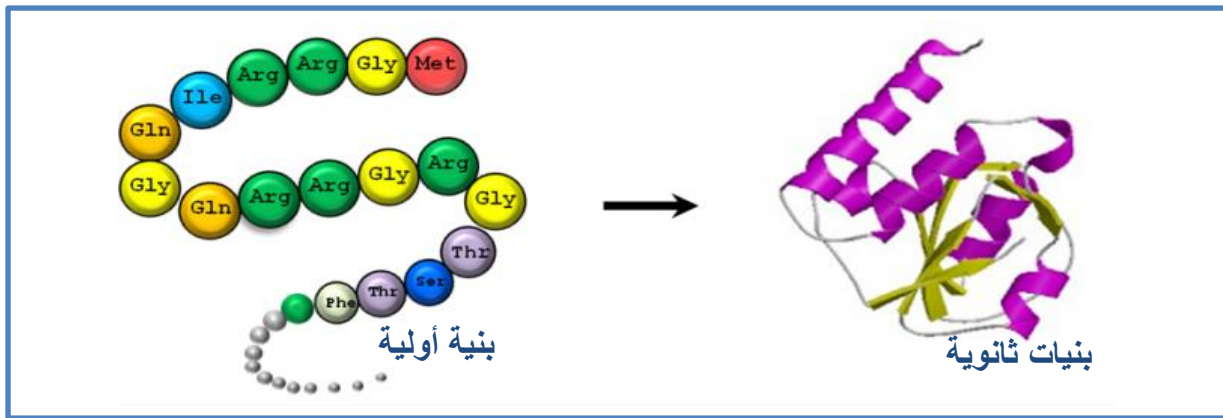
1 - البنية الأولية (primary structure):

- ❖ هي ارتباط عدد من الأحماض الأمينية بروابط ببتيدية وهي عبارة عن تسلسل الأحماض الأمينية. تتميز البنية الأولية بوجود نوع واحد من الروابط بين الأحماض الأمينية وعدم وجود أي انطواء للسلسلة الببتيدية.



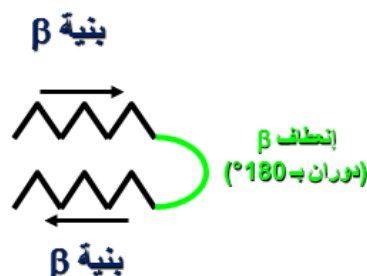
2 - البنية الثانوية (secondary structure):

- ❖ هي إلتفاف (انطواء) السلسلة الببتيدية ذات البنية الأولية في مناطق محدودة في شكل بنية حلزونية α أو أوراق مطوية β وبقاء بعض المناطق غير ملتفة في شكل α أو β (مناطق بينية).
- ❖ استقرار البنية الثانوية يكون بسبب الروابط الهيدروجينية بين مجموعات $C=O$ و $N-H$ التابعة للروابط الببتيدية.
- ❖ تتكون الروابط الهيدروجينية بين مجموعة CO لحمض أميني و NH لحمض أميني آخر يبعد عنه مسافة 4 أحماض أمينية ($n+4$).



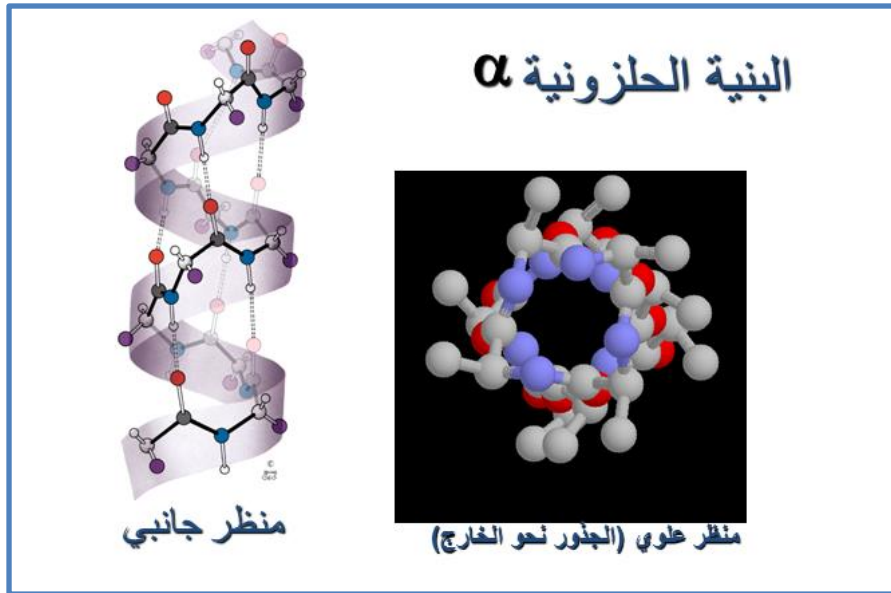
معلومات مفيدة : مناطق الإنعطاف

- هي مناطق بينية (تقع بين البنيات الثانوية) لا تأخذ البنية α ولا البنية β ويمكن أن نجد منها نوعان:
- مناطق انعطاف غير منتظمة طويلة وذات أشكال غير محددة وتتواجد بين البنيات α أو بين α و β .
- إنعطاف β وتتواجد بين بنيتين ثانويتين من نوع β المتعاكسة وتأخذ شكلا محددا وتدون فيها السلسلة الببتيدية بمقدار 180° . طولها لا يتعدى 5 أحماض أمينية (غالبا أربعة) وتحتوي على رابطة هيدروجينية $n+3$. تحتوي عادة على Gly لأنه حمض أميني صغير يمكنه التواجد في هذه المنطقة الصغيرة داخل منطقة الإنعطاف.



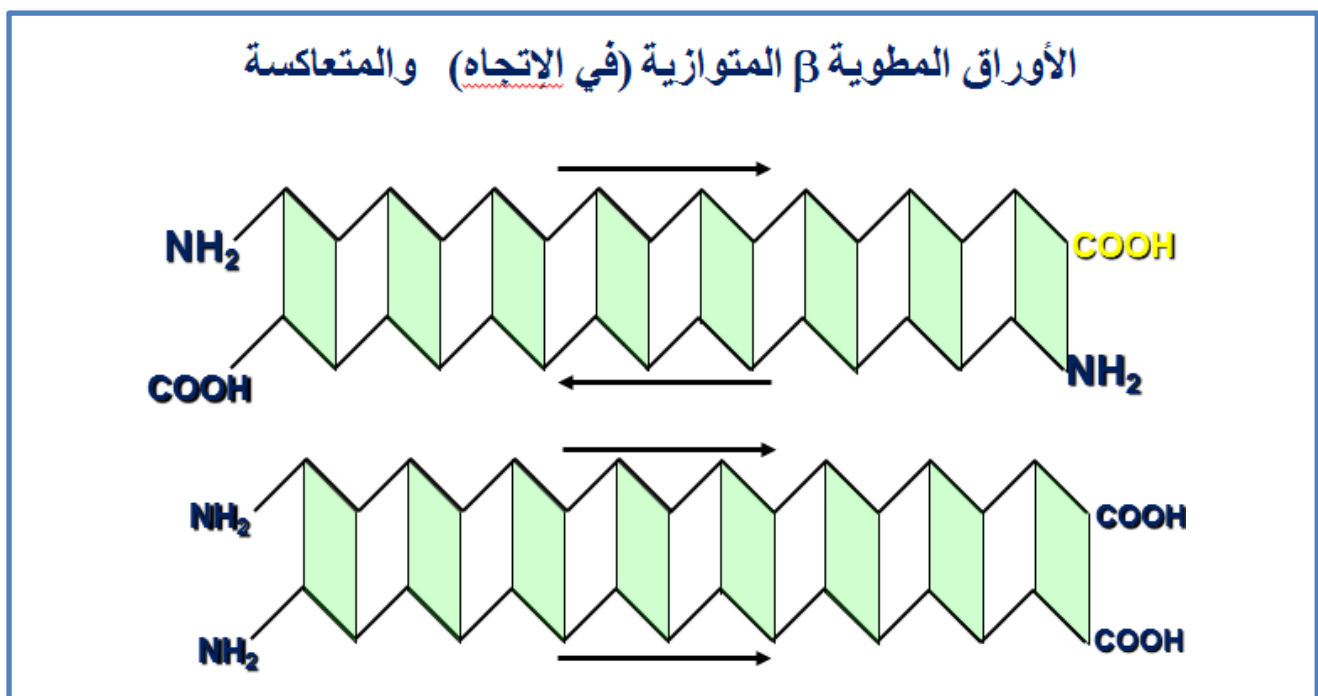
مميزات بنية حلزونية α

- ✓ الروابط الهيدروجينية تكون بين $C=O$ و $N-H$ لحمضيين أمينيين يبعدان عن بعضهما بحوالي أربعة أحماض أمينية وفق القاعدة $n+4$ (بعض الأحيان $n+3$)، حيث n هو موقع الحمض الأميني في السلسلة ، أي أن الحمض الأول يرتبط مع الخامس والثاني مع السادس والثالث مع السابع وهكذا.....
- ✓ قطر هيكل البنية الحلزونية الصغير لا يسمح بتواجد الجذور في الداخل.
- ✓ تتجه جذور الأحماض الأمينية نحو الخارج في شكل شعاعي مما يسمح لها بالإتصال بالبنىات الثانوية الأخرى في البنية الثالثة.



مميزات البنية الثانوية β (الأوراق المطوية)

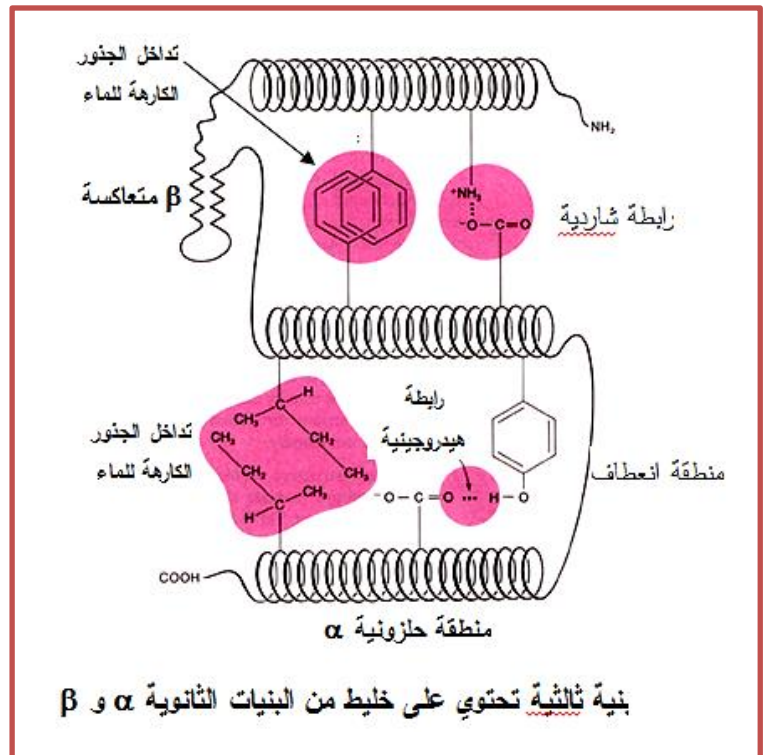
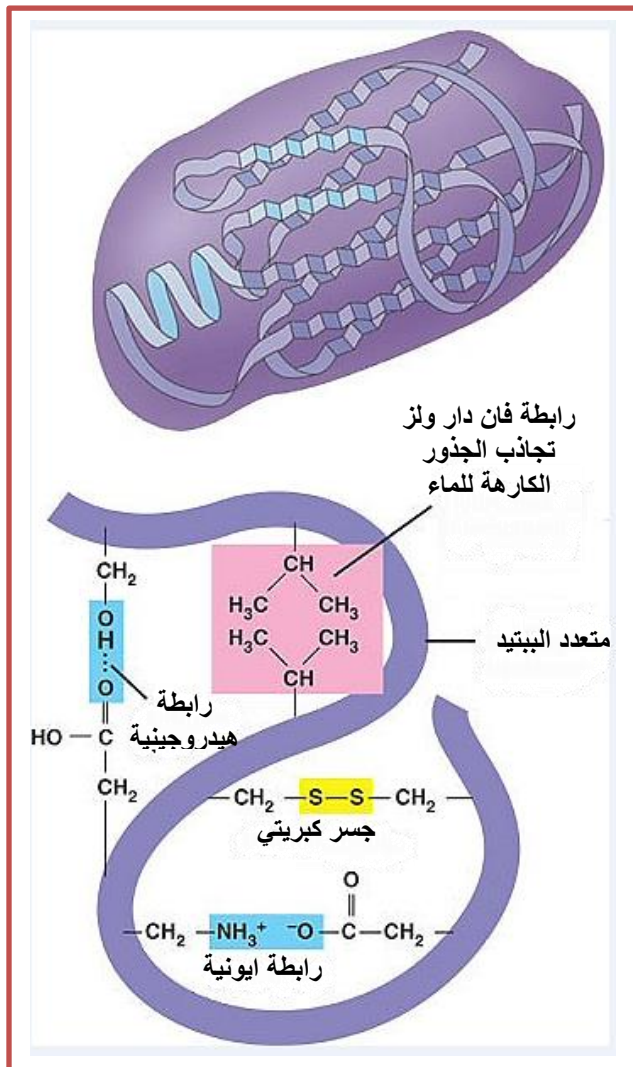
- ✓ طول السلسلة الببتيدية يكون أكبر في البنية الثانوية β من البنية الحلزونية α .
- ✓ قد تكون البنىات β المرتبطة بروابط هيدروجينية متعكسة في الإتجاه أو متوازية في الإتجاه (لها نفس الإتجاه).



3 - البنية الثالثية (tertiary structure):

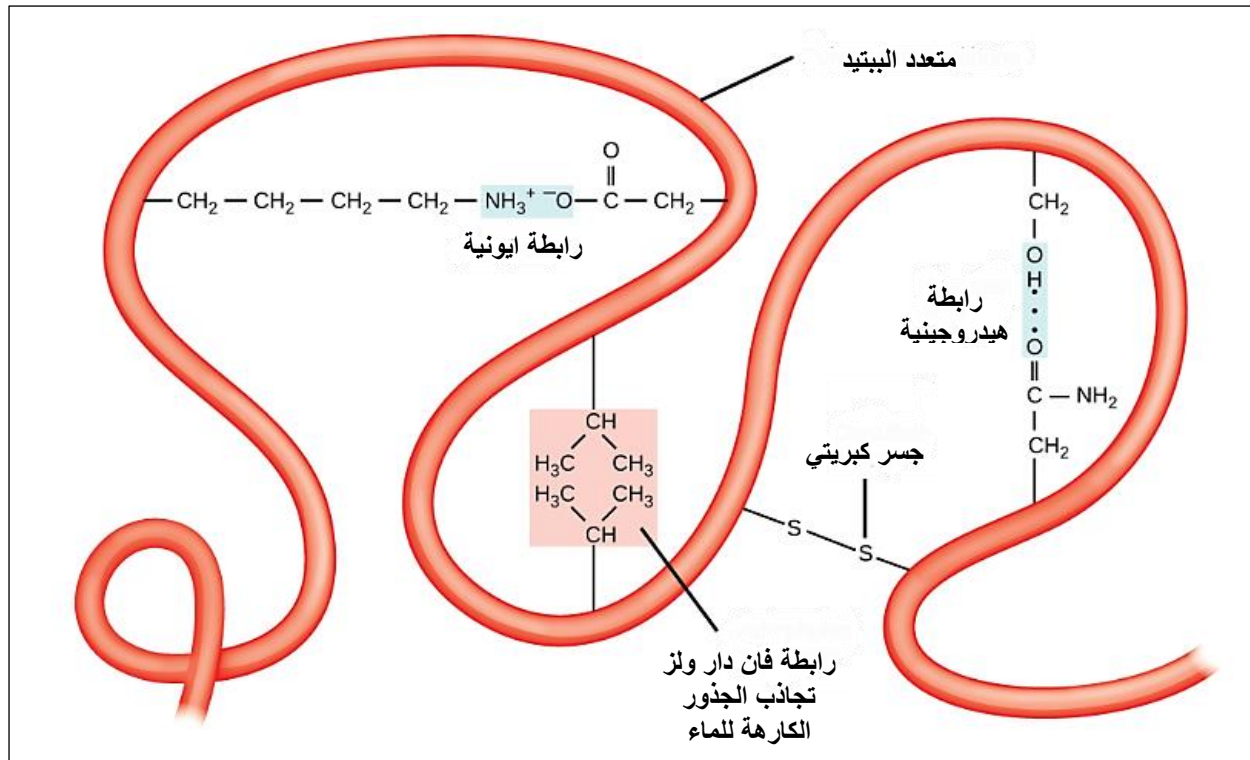
- ❖ وهو الشكل الفراغي ثلاثي الأبعاد الذي تأخذه السلسلة الببتيدية ذات البنية الثانوية.
- ❖ هي التفاف لعدد من البنيات الثانوية لسلسلة ببتيدية واحدة تفصلها مناطق انعطاف. وقد تكون البنيات الثانوية كلها α أو كلها β أو خليط من α و β .
- ❖ تحافظ البنية الثالثية على استقرارها بواسطة 4 أنواع من الروابط : كبريتية ، شاردية ، كارهة للماء وهيدروجينية بين المجموعات الكيميائية الموجودة في السلاسل الجانبية (الجنور).
- ❖ عند انطواء السلسلة الببتيدية ذات التركيب الثانوي α أو β أو كلاهما بنسب مختلفة في الفراغ يأخذ البروتين شكل ثلاثي الأبعاد أو كروي.
- ❖ هذا المستوى من التركيب (البنية الثالثية) يعبر على التوزيع الفراغي لكل الذرات في البروتين بينما تعبر البنية الثانوية على العلاقة التركيبية الموجودة بين الأحماض الأمينية المتجاورة (في مجال محدود).
- ❖ تحافظ البنية الثالثية للبروتين على ثباتها لوجود عدد من الروابط أهمها :

- الجسور ثنائية الكبريت الناتجة من جزيئين من حمض السستيين Cysteine.
- الروابط الملحية أو الشاردية (الكهربائية الساكنة) electrostatic الناتجة من تجاذب الشحنات المتعاكسة الموجودة على السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية القاعدية والهامضية.
- الروابط الهيدروجينية الناتجة من بعض المجموعات في السلاسل الجانبية.
- تجاذب الأطراف أو السلاسل الكارهة للماء مثل السلاسل الجانبية لـ Phe ، Ile و Leu .
- باستثناء الجسور ثنائية الكبريت فإن الروابط المحافظة على التركيب البنائي الثالث للبروتين تكون ضعيفة.



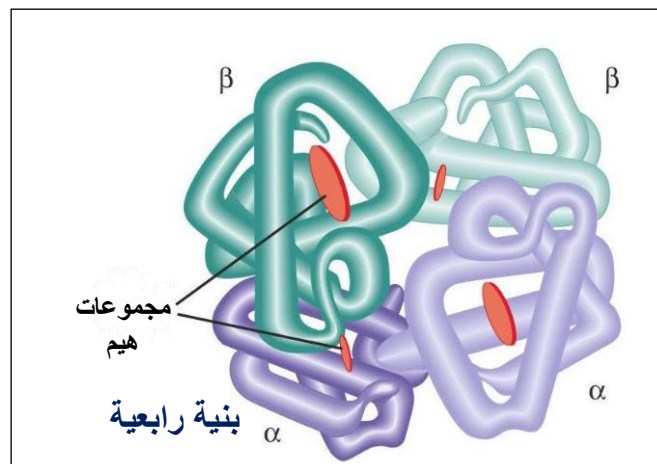
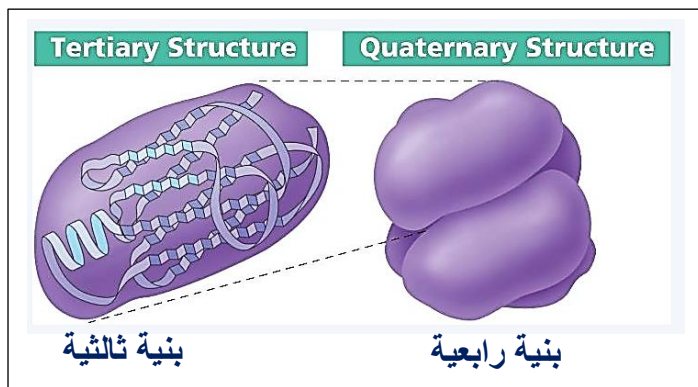
مميزات البنية الثالثية :

- تتميز بنقص في الطول وزيادة في السمك بسبب الالتفاف
- تتميز بنوع الروابط المساهمة في استقراره



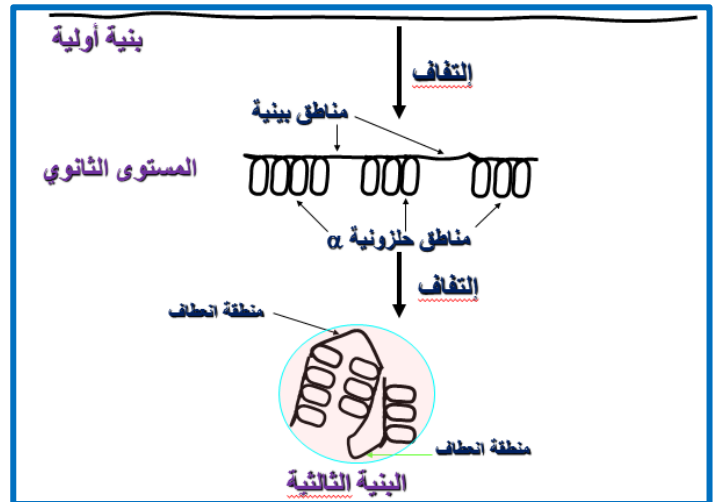
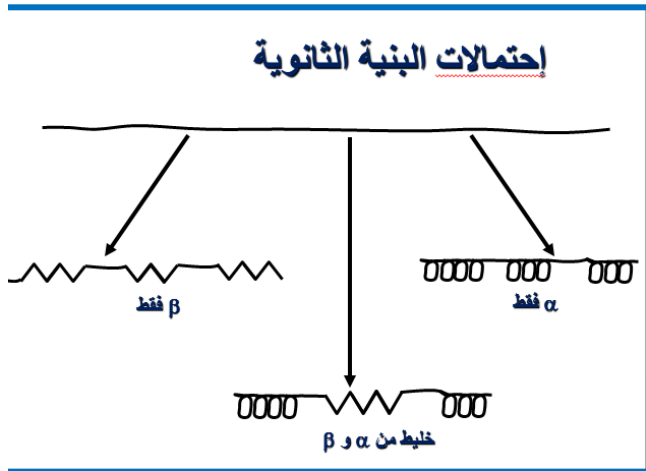
4 - البنية الرابعة (Quaternary structure):

- ❖ يوجد في بعض البروتينات التي تتكون من أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة ويعبر عن التوضع الفراغي للسلاسل الببتيدية فيما بينها والتي يكون لكل منها بنية ثالثة ، وتسمى كل سلسلة ضمن البنية الرابعة بتحت الوحدة (subunit) .
- ❖ هو تجمع سلسلتين ببتيديتين أو أكثر لكل منها بنية ثالثة تسمى كل سلسلة ببتيدية داخل البنية الرابعة باسم تحت الوحدة sous unité .
- ❖ تحافظ البنية الرابعة على استقرارها بواسطة روابط غير تساهمية كارهة للماء أساسا بالإضافة إلى روابط شاردية وربما هيدروجينية كذلك. لا وجود للروابط التساهمية بين تحت الوحدات
- ❖ قد تكون البنية الرابعة متجانسة إذا كانت السلاسل الببتيدية (تحت الوحدات) متشابهة أو تكون غير متجانسة إذا كانت تحت الوحدات غير متشابهة حتى ولو كان بعضها متشابه كما في حالة الهيموجلوبين $\alpha_2\beta_2$ أو إنزيم ATP synthase $ab_2\sigma\alpha_3\beta_3\gamma\epsilon c_{12}$.

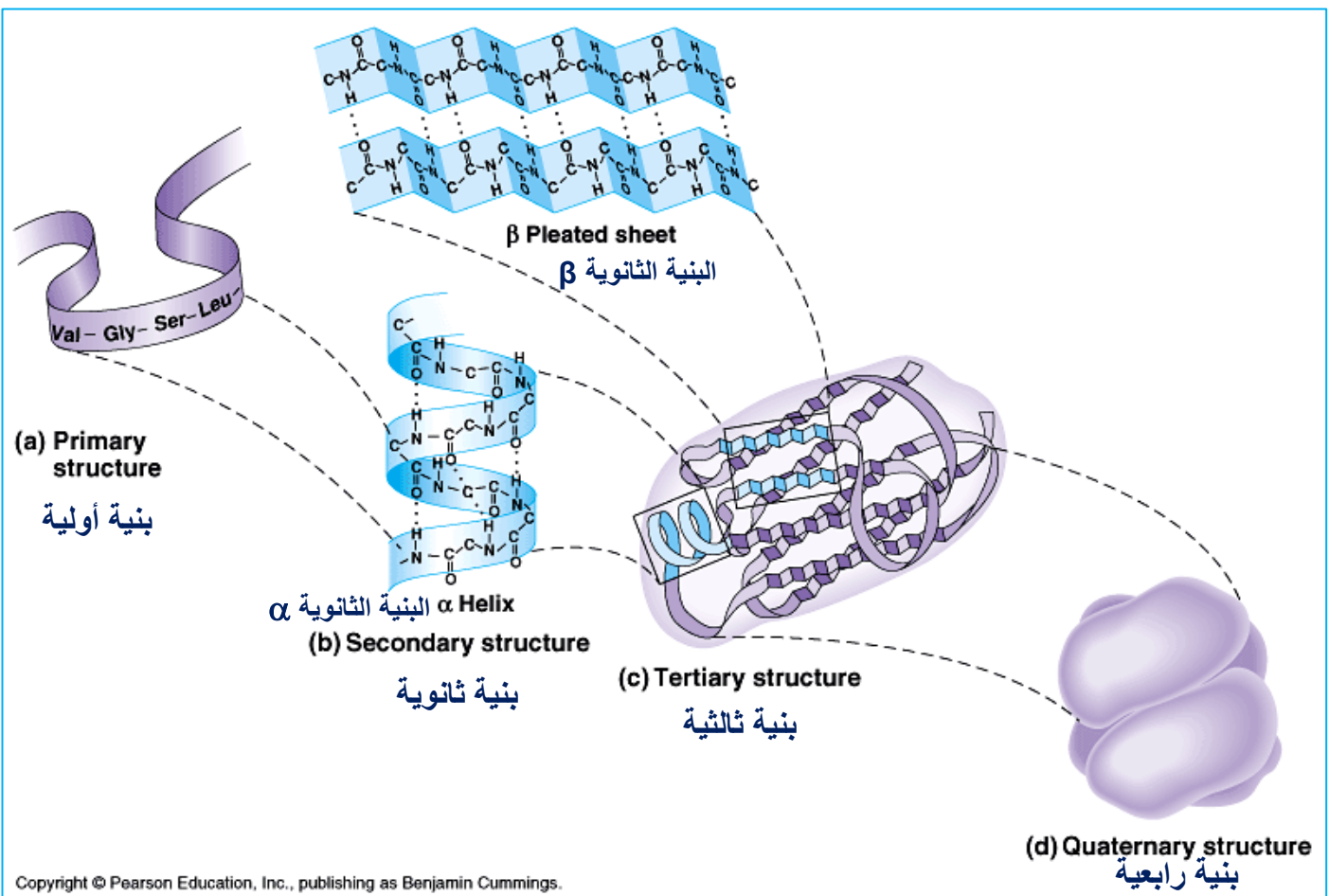


5 - مستويات البنية الفراغية للبروتينات والعلفة بينها

تمثل الوثيقة التالية او (الوثيقة 5 صفحة 45 من الكتاب المدرسي) المراحل المحتملة التي قد تمر بها السلسلة الببتيدية للوصول إلى البنية الفراغية الصحيحة



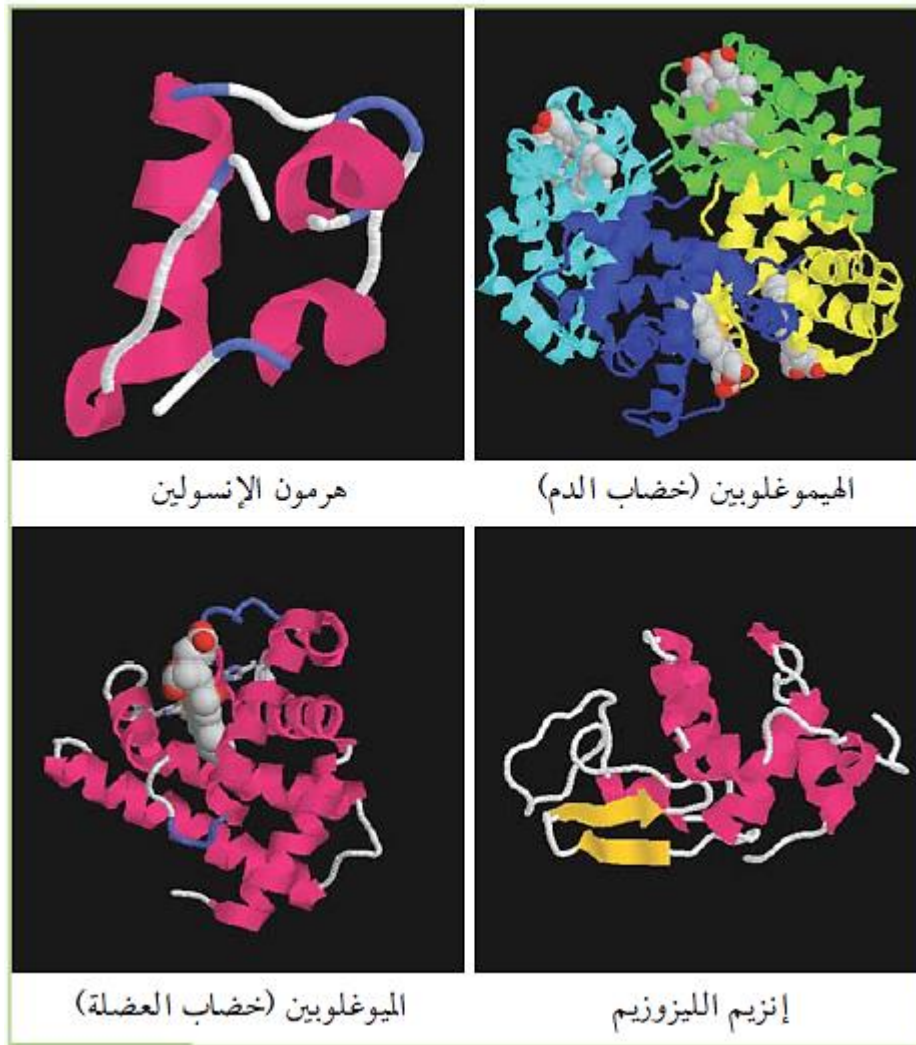
- أن الانتقال من البنية الأولية إلى الثانوية يمر عبر التفاف السلسلة الببتيدية ذات البنية الأولية.
- البنية الثالثة هي التفاف السلسلة الببتيدية ذات البنية الأولية والثانوية
- البنية الرابعة : الانتقال من البنية الثالثة إلى البنية الرابعة ينتج عن تجمع السلاسل الببتيدية ذات البنيات الثالثة (تحت وحدات)



معلومة مفيدة

للبرولين دور أساسي في تحديد نوع البنية الفراغية للبروتين. يعتقد أن البرولين لا يتواجد عادة داخل البنية الحلزونية α لأن بنيته الفراغية لا تتناسب مع هذه البنية ويتسبب البرولين عادة في عدم استمرار البنية الحلزونية α وظهور نقاط الإنعطاف. أقوى دليل على هذا هو الغياب الكلي لحمض البرولين في البروتينات الليفية المتكونة من بنية حلزونية α مستمرة بدون وجود مناطق انعطاف مثل الكيراتينات α المكونة للشعر. الرابطة الببتيدية بين أحماض أمينية والبرولين تكون من النوع CO-N وليس من النوع CO-NH في باقي الأحماض

6 – أمثلة عن البنية الفراغية لبعض البروتينات



أوجه التشابه والاختلاف فيما بينها :

البروتينات	الهيموغلوبين	الانسولين	الليزوزم	الميوغلوبين
أوجه المقارنة				
درجة التعقيد	معقدة	بسيطة	متوسطة التعقيد	متوسطة التعقيد
عدد السلاسل	4 سلاسل	سلسلتان	سلسلة واحدة	سلسلة واحدة
أنواع البنيات الثانوية	الحلزونية α (باللون الأحمر) أو وريقات β (باللون الأصفر ومناطق الإنعطاف (أبيض – أزرق))	الحلزونية α (3)	الحلزونية α (3)	الحلزونية α (3)
عدد البنيات الثانوية	حوالي 32 (الحلزونية α)	حوالي 10-8	حوالي 10-8	حوالي 10-8

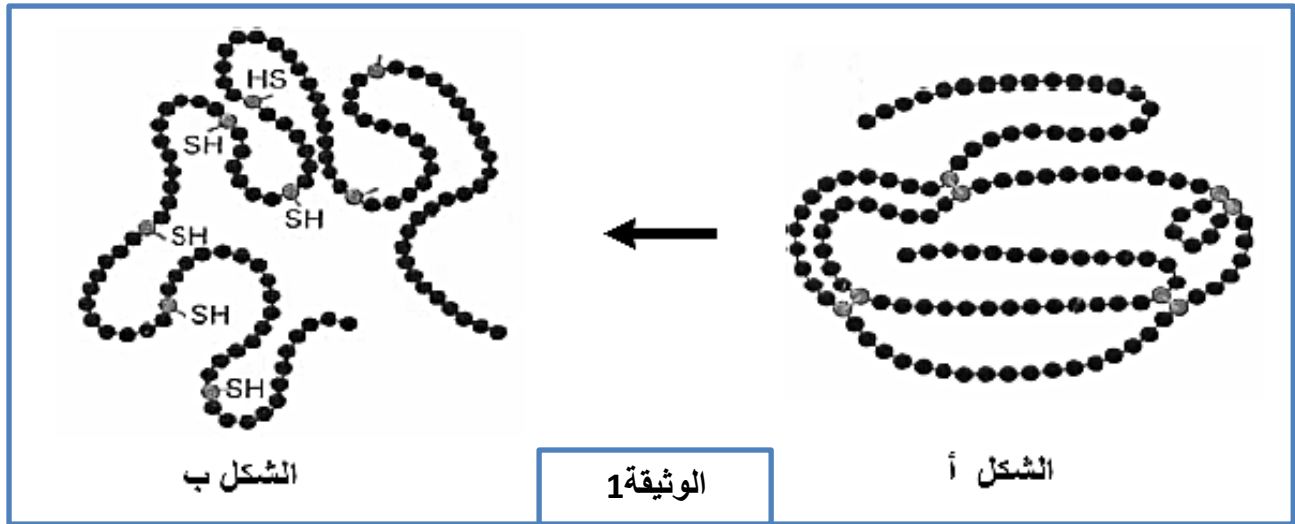
أن الاختلاف الأساسي بين البروتينات هو الاختلاف في نوع وعدد وتتابع الأحماض الأمينية

العلاقة بين البنية الفراغية ثلاثية الأبعاد ووظيفة البروتين

تجربة انفانسن Anfinson :

تمثل الوثيقة (1) التجربة التي حققها **Anfinson** على إنزيم الريبونوكلياز (الشكل "أ" من الوثيقة 1) ، إنزيم ذو بنية سهلة الدراسة.

1 - تتمثل التجربة في تفكيك عدة روابط (عدا الروابط الببتيدية) بمعالجة الإنزيم بمواد مثل β مركبتوايثانول واليوريا (الشكل "ب" من الوثيقة 1). تبين من معايرة النشاط الإنزيمي ان الشكل "ب" للإنزيم غير وظيفي.

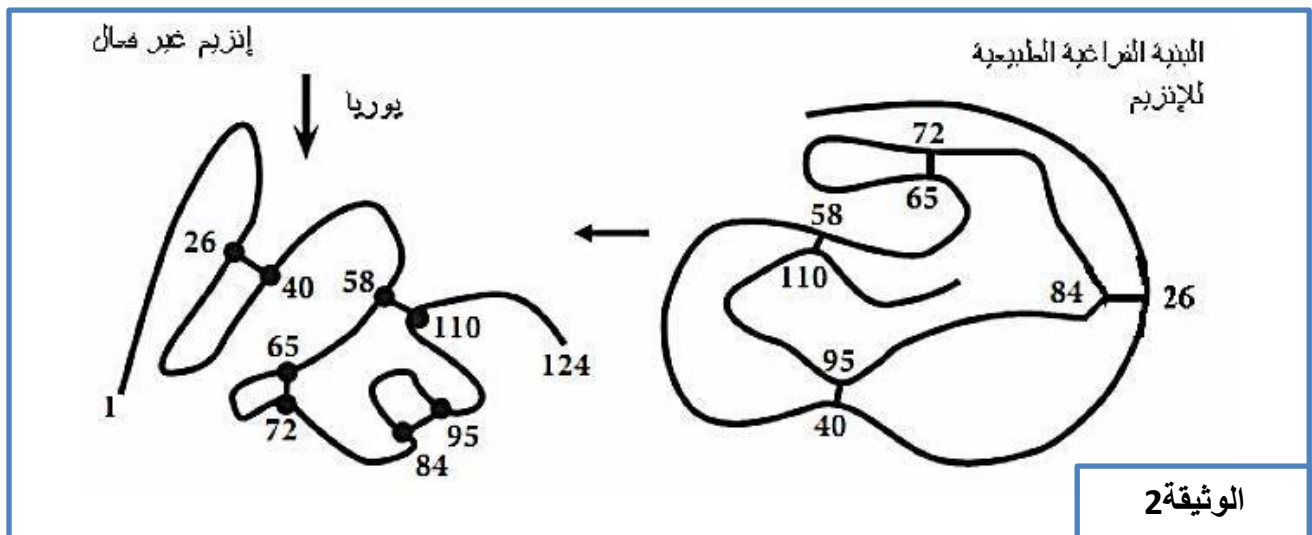


أ - ماهو الغرض من هذه التجربة :

ب - كيف تسمح التجربة المقدمة بإظهار علاقة بين شكل إنزيم الريبونوكلياز و وظيفته ؟

ج - فسر النتيجة المحصل عليها مع الشكل "ب" للوثيقة 1؟

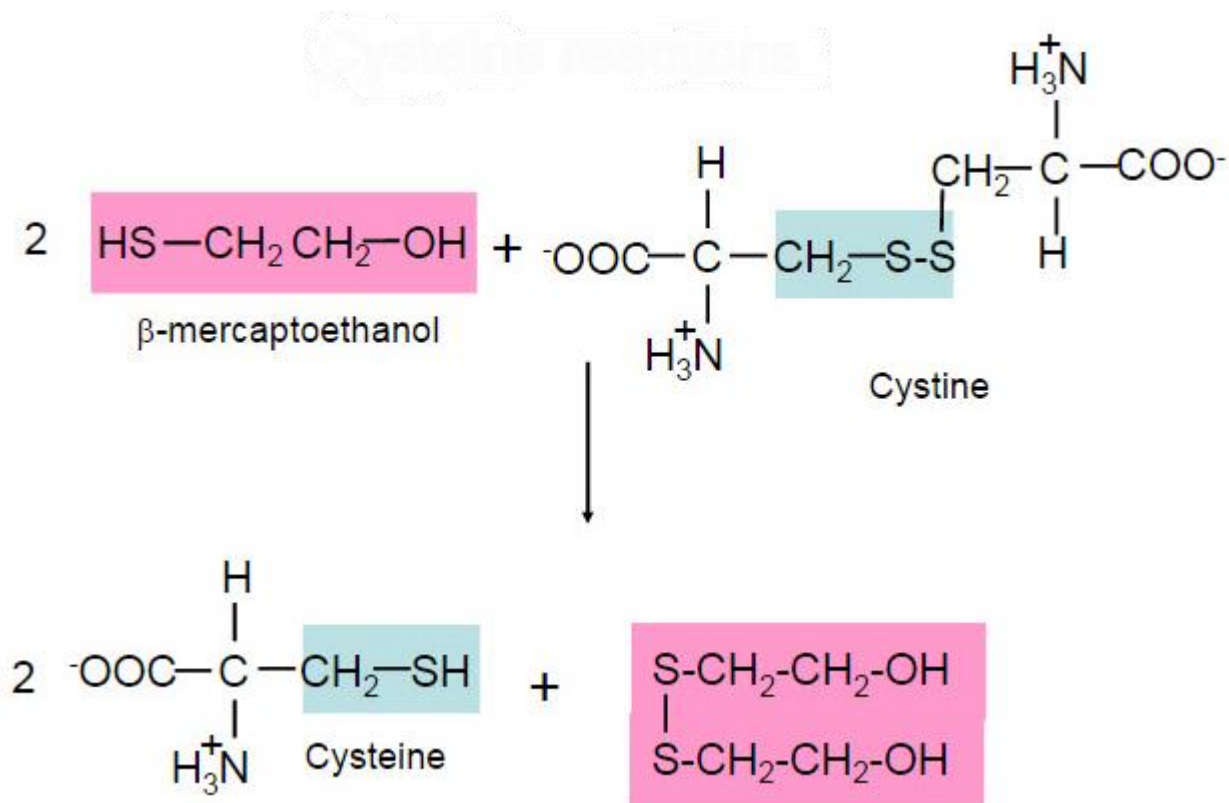
2 - إن إضافة اليوريا إلى الريبونوكلياز المخربة أدت إلى استعادة البنية الفراغية للإنزيم كما هو مبين في الوثيقة 2. الإنزيم المحصل عليه غير فعال.



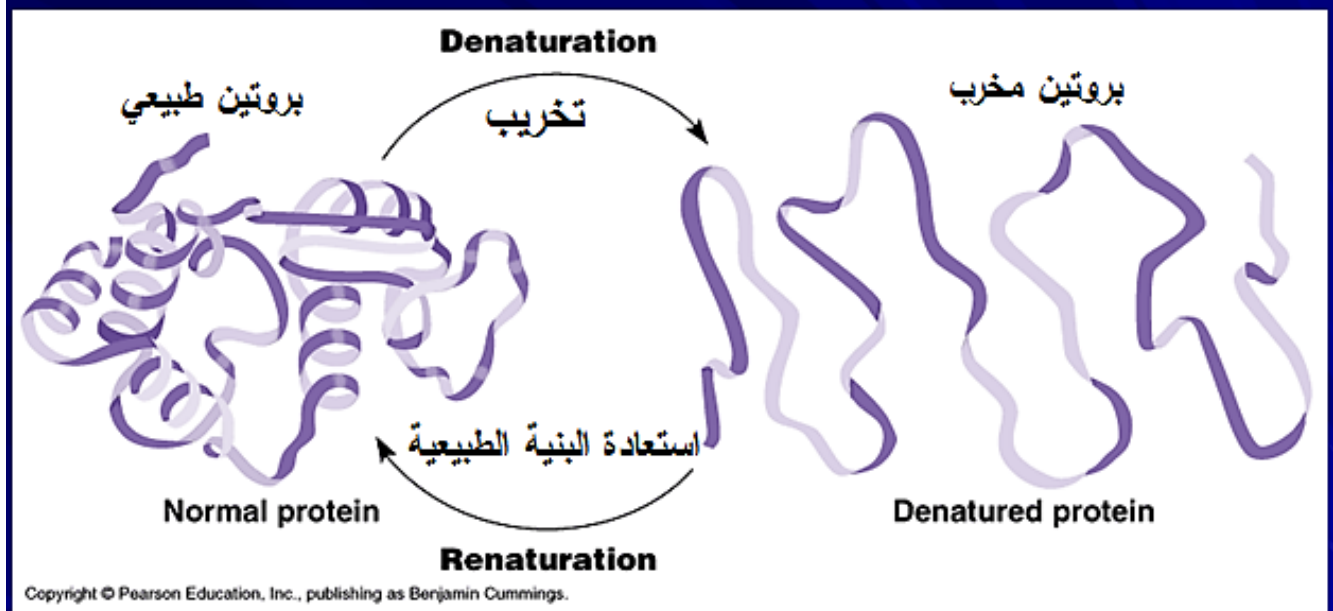
استغل هذه التجربة وعلل العبارة التالية :

" إن آآالي الأأماض الأمينية للبروتين يتضمن المعلومة اللازمة للحصول على بنية آلاثية الابعاد مستقرة ،البنية التي تعطي للبروتين وظيفته البيولوجية " .

معلومة مفيدة : طريقة تأثير مادة β مركبآوانآول



التأريب واستعادة البنية الطبعية للبروتين



الإجابة :

1 أ – الغرض من هذه التجربة :

تهدف هذه التجربة إلى إظهار وجود علاقة بين بنية و وظيفة البروتين بمعنى أن البنية ثلاثية الأبعاد هي التي تمنح البروتين نشاطه الحيوي (وظيفته).

ب – العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين :

عندما تتغير البنية الفراغية الجزيئية (الانزيم) بتفكيك البعض من روابطها (جسور ثنائية الكبريت) يصبح الانزيم غير فعال ، مما يدل على أن وظيفة البروتين مرتبطة ببنية الفراغية أي كيفية ترتيب الأحماض الأمينية فيما بينها فضائياً.

ج – تفسير النتيجة المحصل عليها في الشكل "ب" :

يفسر فقدان الانزيم لنشاطه يكون هذا الأخير مرتبط بالبنية الفراغية ثلاثية الابعاد الناتجة عن الترتيب المحدد وراثياً للأحماض الامينية

2 – تحليل العبارة :

- ✓ تبين الوثيقة (2) أن استعادة البنية الفراغية للبروتين تمت بتشكيل الجسور الكبريتية بين أحماض امينية تختلف عن الاحماض الامينية للانزيم الطبيعي فأصبح هذا الأخير غير وظيفي.
- ان إعادة تشكّل الجسور الكبريتية بين الاحماض الأمينية تختلف عن الاحماض الامينية للانزيم يجعل إذن البروتين غير وظيفي.
- ✓ ان الشكل النهائي الذي يأخذه البروتين ، بنيته الثالثة (أو الرابعة في حالة البروتينات المكونة من عدة سلاسل) مرتبطة بالقوى المسؤولة على الارتباط التي تجمع جذور الأحماض الامينية فيما بينها والمشكلة للبنية الأولية.
- ✓ لترتيب الأحماض الامينية إذن أهمية قصوى ، فهو يلعب دور طريقة انطواء السلسلة.
- ✓ من جهة أخرى ، تخريب الجزيئة تجريبياً باستعمال عوامل فيزيائية أو كيميائية لا يؤثر على البنية الأولية أي سلسلة الاحماض الامينية الت تم تحديدها وراثياً وهذا ما يؤكد أن البنية الأولية هي التي تحدد بنيتها ثلاثية الابعاد.
- بما ان سلسلة الاحماض الامينية هي نحددة وراثياً وفق تسلسل نيوكليوتيدات جزيئة الـ ADN (السلسلة المعبرة) ، فالمعلومة الوراثية إذن هي التي تحدد البنية الفراغية للبروتين التي تسمح له بإداء وظيفته .

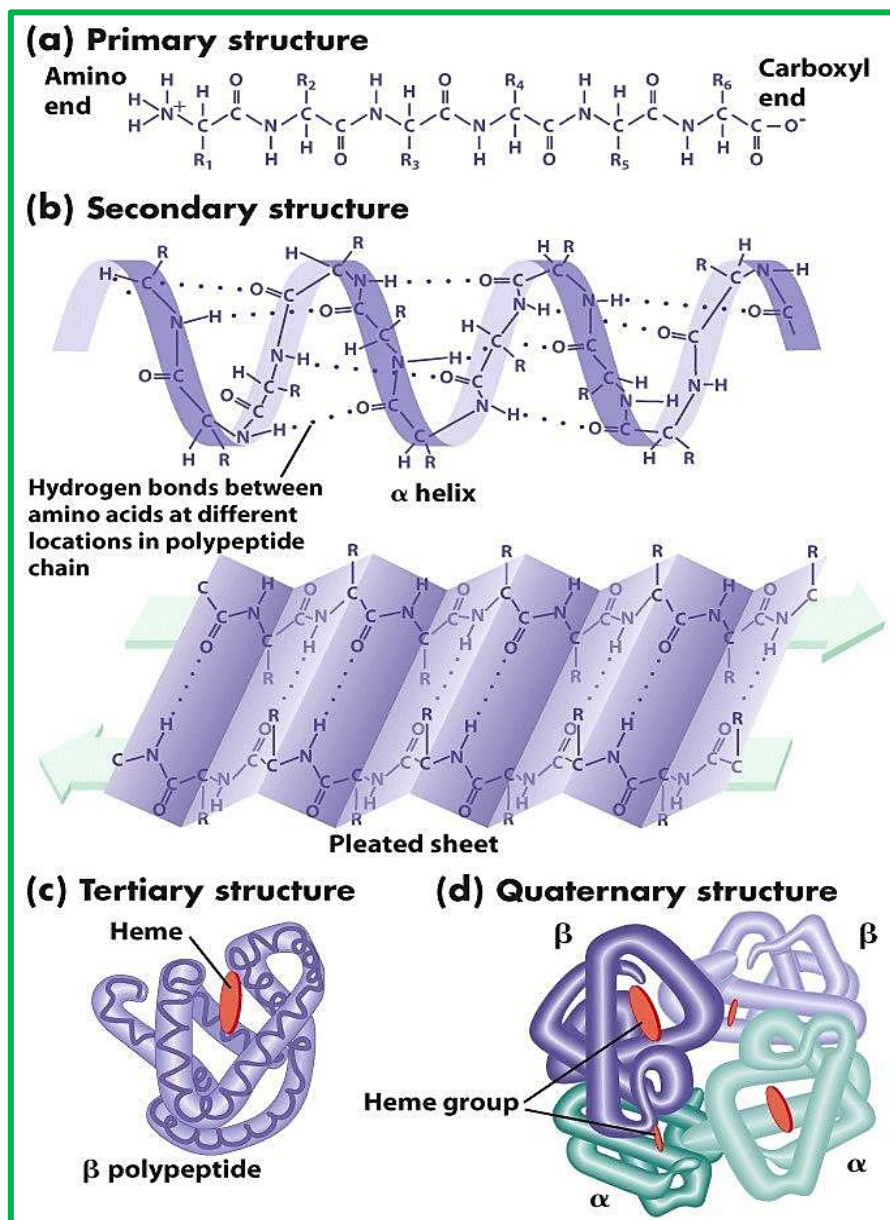
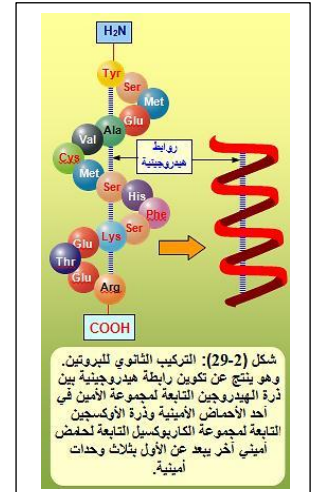
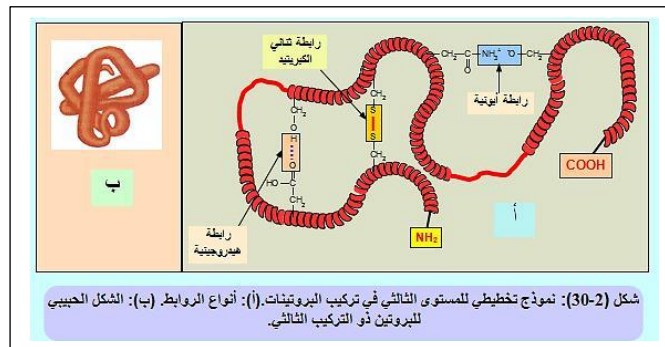
الخلاصة :

- ❖ وجود أحماض أمينية من نوع محدد في أماكن محددة يؤدي إلى تكوين روابط كيميائية تحدد البنية الفراغية للبروتين وتعمل على ثباتها ، حيث تكسير تلك الروابط يفقد البنية الفراغية الطبيعية للبروتين وبالتالي يفقد وظيفته.
- ❖ تؤكد هذه التجربة أن للأحماض الأمينية دور أساسي في تحديد البنية الفراغية وبالتالي وظيفة البروتين "ترجع البنية الفراغية للبروتين إلى عدد، طبيعة وتوالي الأحماض الأمينية المشكلة لها"

معلومة مفيدة : قواعد هامة في انطواء البروتين

من بين القواعد الهامة في انطواء البروتين المحب للماء مثل الهيموجلوبين والميوجلوبين والبيومين البيض وإنزيم الليزوزيم هو تواجد الأحماض الأمينية المحبة للماء على سطح البروتين وتواجد الأحماض الأمينية الكارهة للماء في داخل (قلب) الجزيء.

القاعدة: أحماض أمينية محبة للماء على السطح
أحماض أمينية كارهة للماء في الداخل
أي خلل في هذه القاعدة قد تؤدي إلى خلل في عمل البروتين ومرض



المفاهيم المبينة : الوحدة 2 : العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين

- ✓ تظهر البروتينات ببنيات فراغية مختلفة، محددة بعدد و طبيعة وتتالي الأحماض الأمينية التي تدخل في بنائها.
- ✓ تتكون جزيئات الأحماض الأمينية من وظيفة أمينية (-NH_2) ووظيفة حمضية كربوكسيلية (-COOH) مرتبقتان بالكربون α وهما مصدرا الخاصية الأمفوتيرية .
- ✓ يوجد عشرون حمضا أمينيا أساسيا تختلف فيما بينها في السلسلة الجانبية (الجزر R).
- ✓ تصنف الأحماض الأمينية حسب السلسلة الجانبية إلى:
 - ✚ أحماض أمينية قاعدية (ليزين، أرجنين...)
 - ✚ أحماض أمينية حمضية (حمض الغلوتاميك، حمض الأسبارتيك....)
 - ✚ أحماض أمينية متعادلة (سيرين، الغليسين..).
- ✓ تسلك الأحماض الأمينية سلوك الأحماض (تعطي بروتونات) وسلوك القواعد (تكتسب بروتونات) وذلك تبعا لدرجة حموضة الوسط لذلك تسمى بالمركبات الأمفوتيرية (الحمقلية).
- ✓ ترتبط الأحماض الأمينية المتتالية في سلسلة بيبتيديدة بروابط تكافؤية تدعى الرابطة البيبتيديدة (-CO--NH-) - تختلف البيبتيديات عن بعضها بالقدرة على التفكك أشاردي لسلاسلها الجانبية التي تحدد طبيعتها الأمفوتيرية وخصائصها الكهربائية.
- ✓ تتوقف البنية الفراغية وبالتالي التخصص الوظيفي للبروتين، على الروابط التي تنشأ بين أحماض أمينية محددة (ثنائية الكبريت، شاردية،....)، و متموضعة بطريقة دقيقة في السلسلة البيبتيديدة حسب الرسالة الوراثية .