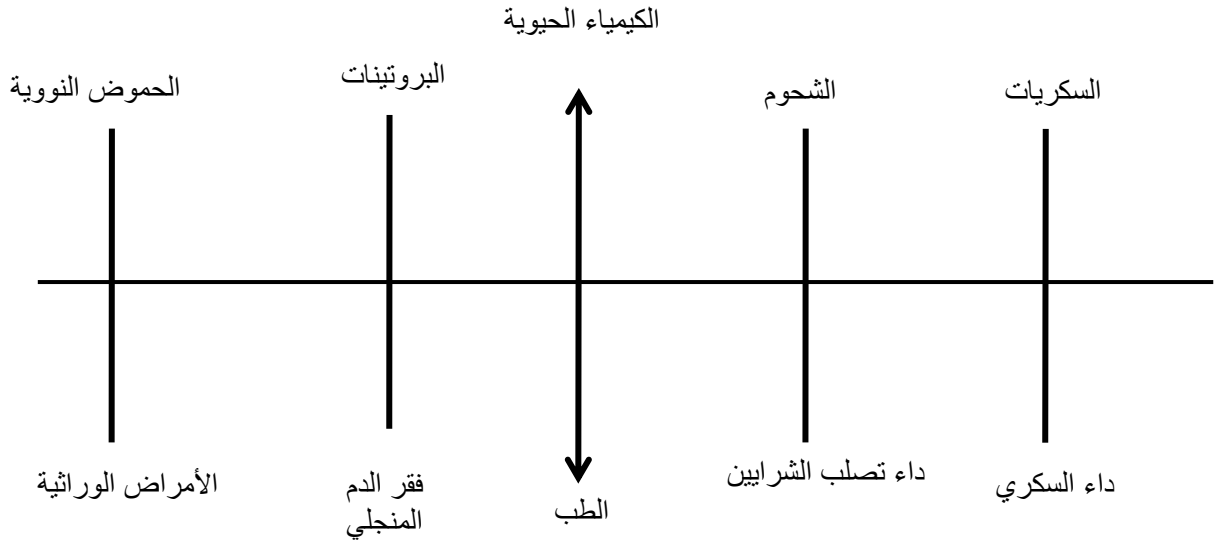


الكيمياء الحيوية

1. مقدمة:

الكيمياء الحيوية هو العلم الذي يهتم بدراسة التفاعلات الكيميائية التي تتم داخل الجسم الحي عندما تقوم الأعضاء بوظائفها الحيوية. و بالتالي تهدف الكيمياء الحيوية إلى وصف و شرح كل العمليات التي تجري في الخلايا على الصعيد الجزيئي. ولقد ساهم استخدام كل من طرق التحليل البنيوي كأشعة رونتجن، الكروماتوغرافيا و العناصر المشعة في تتبع تلك التفاعلات وتفهم قوانين كثيرة من نشاطات الخلية الحية. إن معرفة الكيمياء الحيوية أمر هام و ضروري بالنسبة لكل علوم بما فيها العلوم الطبية. فالكيمياء الحيوية ترتبط بكثير من مجالات العلوم مثل علم المورثات، فيزيولوجيا، علم الأدوية و الصيدلة، علم المناعة.... تساهم الدراسات الكيمياء الحيوية بتشخيص الأمراض و التنبؤ بحدوثها ثم معالجتها.



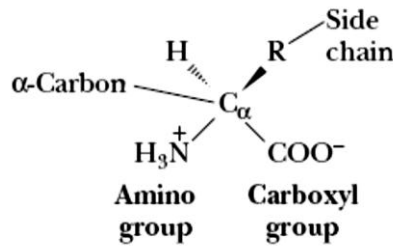
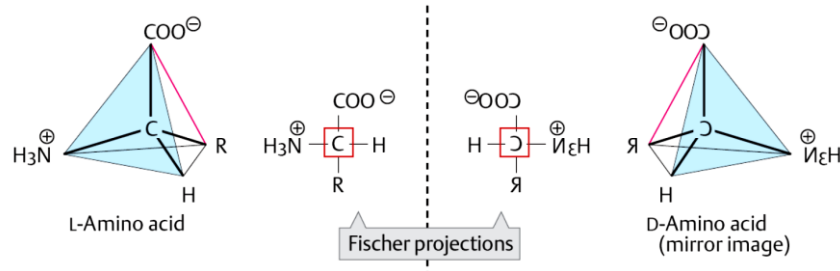
الحموض الأمينية Amino acid

1- مقدمة:

الحموض الامينية هي الأحجار الأساسية للمركبات البروتينية التي تشكل الجزء الأكبر من بنية الخلية الحية. فالبروتينات ليست إلا مركبات متعددة الحموض الأمينية (بوليميرات) تعطي عند الحلمهة بواسطة الأنزيمات أو الوسائط الكيميائية حموضاً أمينية من جديد.

ولكن الحموض الأمينية لا تلعب الدور الأساسي في تركيب المواد البروتينية فقط، بل يمكن لها من خلال التفاعلات الاستقلابية داخل الجسم الحي أن تعطي مركبات أولية لمواد هامة يحتاج إليها الجسم كالهيموغلوبين. كما تلعب بعض الحموض الامينية أيضا دور نواقل عصبية γ - amino Butyric Acid, Glycine (GABA) أو تشكل طليعة بعض النواقل العصبية.

الحموض الأمينية، مركبات عضوية تتميز بإحتوائها على كربون تحل بنفس الوقت زمرة الكربوكسيل (COOH) ذات طبيعة حمضية و زمرة أمين (NH₂) ذات طبيعة قلوية ، وسلسلة جانبية R. ويدعى هذا الكربون بالكربون ألفا. تكون ذرة الكربون هذه غير متناظرة عندما تكون مرتبطة بأربع متبادلات مختلفة (ما عدا الغليسين Glycine). نظرا لوجود ذرة كربون ألفا غير متناظرة فهي تتمتع بالفعالية الضوئية و بوجود مماكبين متخاليين D, L يعتمد على وضع الزمرة أمينو بالنسبة للزمرة الكربوكسيلية.

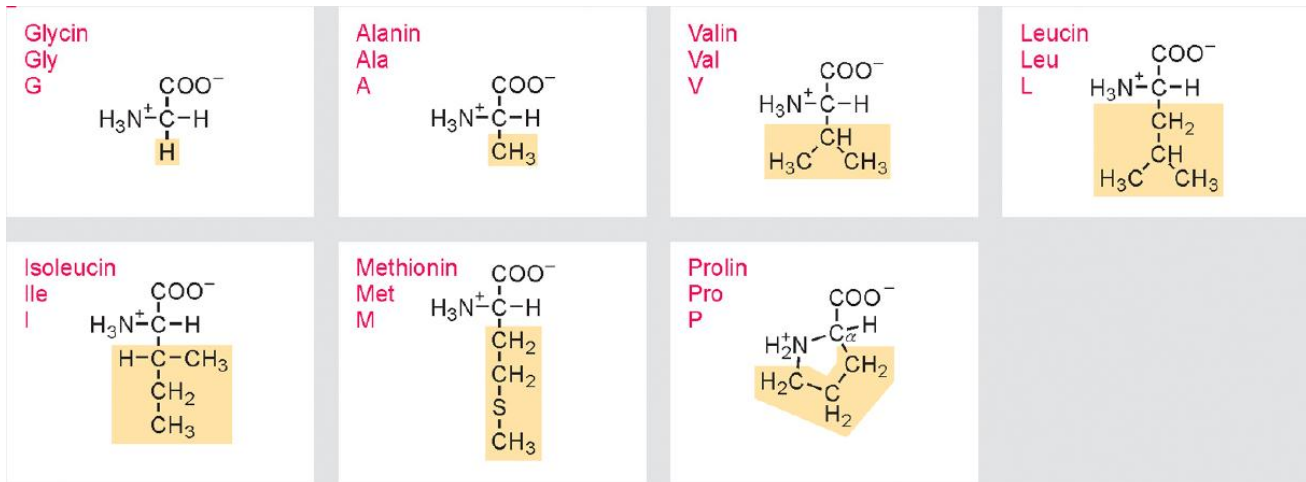


يوجد في الطبيعة أكثر من 300 حمض أميني، تم الحصول عليها من المصادر البيولوجية المختلفة، يدخل في تركيب البروتينات عند البشر فقط 20 حوضاً أمينياً و تدعى بالحموض الأمينية المعيارية. من هذه الحموض الامينية العشرون هناك 10 حموض أمينية تدعى بالحموض الأمينية الأساسية (التغذية، أو الضرورية) وهي الحموض التي لا يستطيع جسم الإنسان أو الحيوانات العليا اصطناعها بل يتم الحصول عليها من الغذاء وهي: الفالين Val, الأرجينين Arg, التريوزين Thr, الهيستيدين His, اللوسين Leu, الإيزولوسين Ile, التريبتوفان Trp, الميثونين Met, فينيل ألانين Phe و الليزين Lys. أما البقية فتدعى بالحموض الامينية اللاأساسية (غير ضرورية تغذوياً). و هناك أيضاً حموض أمينية نصف تغذوية مثل أرجنين و الهيستيدين حيث يحتاجها الجسم فقط خلال فترة معينة أثناء سن النمو فقط و بعدها تصبح الكميات الواردة مع الطعام كافية لعدم حدوث حالات مرضية.

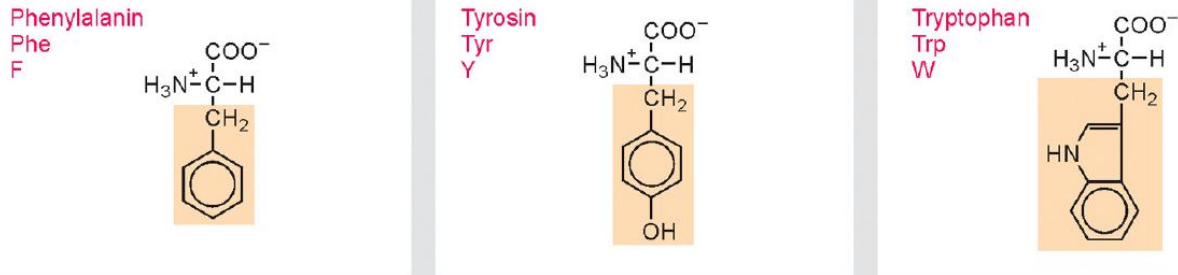
2- تسمية و تصنيف الحموض الأمينية:

تختلف الحموض الأمينية عن بعضها بطبيعة سلاسلها الجانبية (R) التي تكون مختلفة البنية من حمض إلى آخر. وهناك عدة جهات نظر في هذا المجال ونورد هنا أن نختار التقسيم التالي:

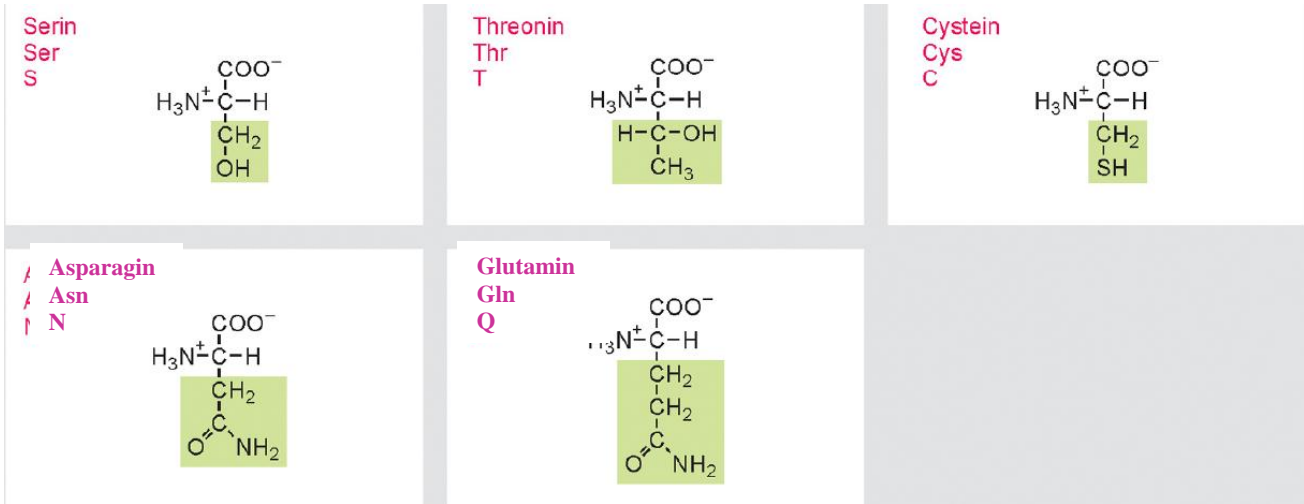
1- الحموض الأمينية اللاقطبية و تكون سلسلتها الجانبية أليفاتية أي كارهة للماء (غير قطبية) لا تشارك في الروابط الهيدروجينية والايونية ولا تترجح ولا تعطي بروتون , و ينضم إلى هذه المجموعة البرولين الذي يملك سلسلة جانبية أليفاتية و لكنها بشكل حلقة ترتبط بذرة كربون ألفا والزمرة الأمينية بأن واحد



II- حموض الأمينية عطرية Aromatic Amino Acids: تحتوي سلسلتها الجانبية R حلقة عطرية وينتمي إلى هذه المجموعة الفينيل ألانين Phenylalanine وتكون سلسلته الجانبية غيرقطبية و غير مشحون, أما التربتوفان Tryptophan فهو ضعيف القطبية حيث يحوي على زمرة الأندولية بينما يكون التيروسين Tyrosine قطبي لاحتوائه على زمرة الهيدروكسيل

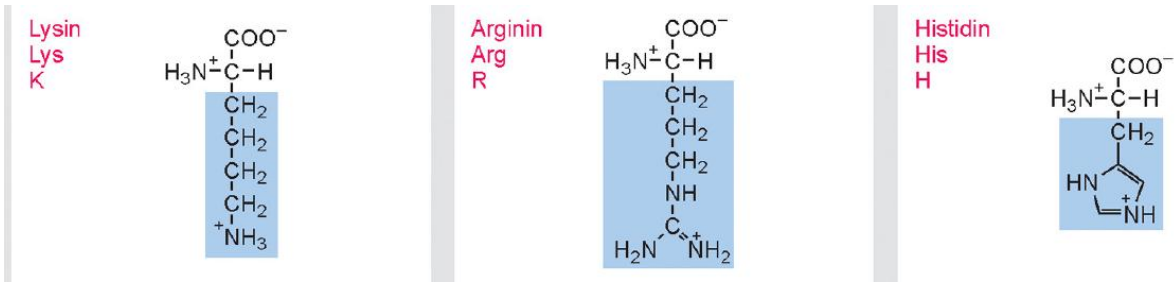


III- الحموض الأمينية القطبية وغير مشحونة: وهي خمسة حموض أمينية , تكون الزمرة R لهذه الحموض الأمينية أكثر ذوبانا في الماء أي أكثر هيدروفيلية من الحموض الأمينية اللاقطبية وذلك بسبب احتوائها على زمرة وظيفية تستطيع تشكيل روابط هيدروجينية مع الماء. يشتمل هذا الصف على الحموض الامينية التالية: السيرين, التريونين (يحوي على ذرتي كربون غير متناظرة), التيروسين, السيستئين, الأسباراجين, و الغلوتامين. وتأتي قطبية السيستئين من الزمرة الهيدروكسيلية (زمرة الثيول), في حين قطبية لكل من الأسباراجين و الغلوتامين فنشئة من الزمرة الأميدية.



IV- الحموض الأمينية القلوية: هي الحموض الامينية التي تحمل على سلسلتها الجانبية شحنة موجبة متوضعة على زمرة الأمين مثل الليزين و الأرجينين مما يجعلها شديدة القطبية. و نلاحظ وجود الزمرة الغوانيدية في

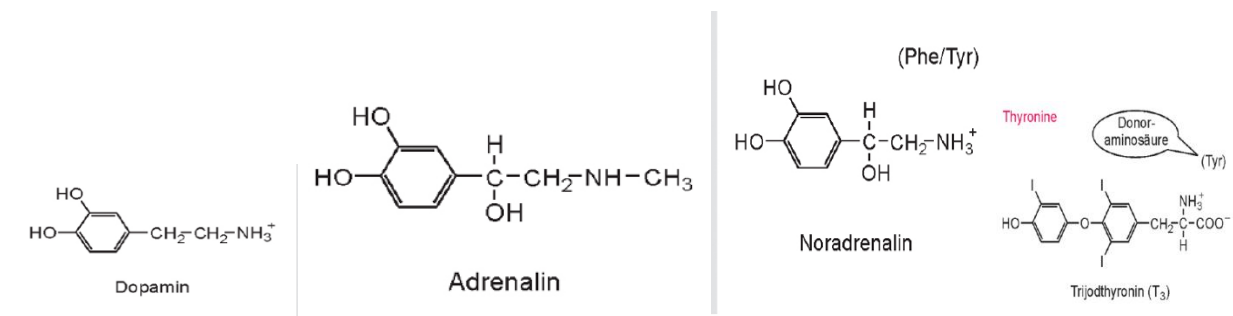
السلسلة الجانبية المميزة للأرجينين أما الهيستيدين فإنه يحمل حلقة الازيميدازول العطرية التي تكون مشحونة إيجابيا عند $pH=6$.



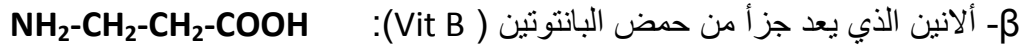
VI - الحموض الأمينية الحمضية: تتميز تلك الحموض الأمينية بأنها تحمل على سلسلتها الجانبية شحنة سالبة متوضعة على زمرة الكربوكسيل وتضم حمض الأسبارتيك ونستطيع ان نطلق عليه أيضا الأسبارات و حمض الغلوتاميك ويدعى أيضا الغلوتامات.



لابد من الإشارة إلى أن هناك بعض الحموض الأمينية من النوع ألفا تمتلك فعالية كبيرة في عمليات الاستقلاب لكنها لا تدخل في تركيب البروتينات و أهمها : الاورنيثين , السيترولين الذي يظهر كمرحلة وسيطية في عملية الاصطناع الحيوي للبولة وكذلك الأمر بالنسبة لمشتقات التيروسين



وأيضاً يوجد في الطبيعة حموض أمينية ليست من النوع ألفا ولكن لها دور هام في عمليات الاستقلاب منها:



التورين يوجد في الصفراء ويقترن مع الحموض الصفراوية

γ -أمينو حمض البزبدة (GABA) يتشكل من حمض الجلوتام بعملية نزع كربوكسيل وذلك في النسيج الدماغي



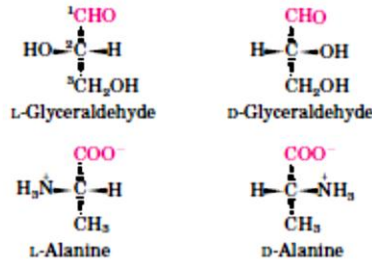
3- أهم خصائص الحموض الأمينية:

- الإنحلالية و الإنصهار:

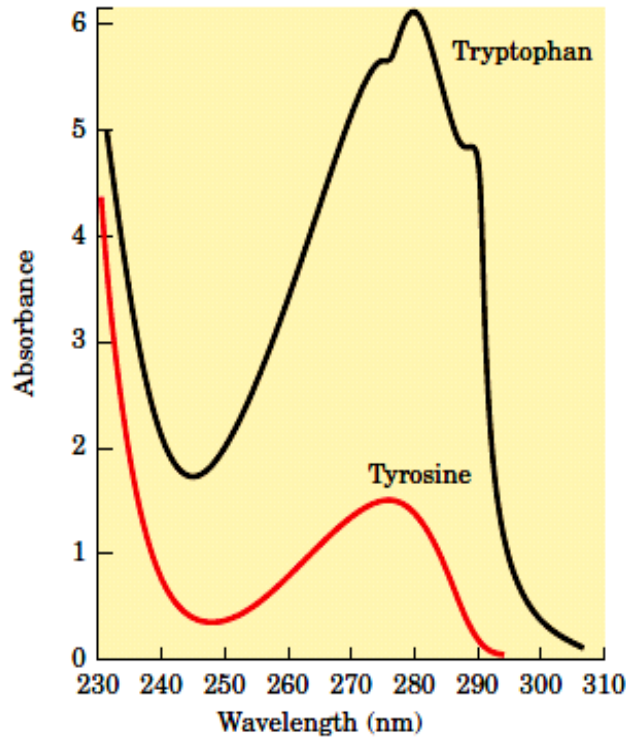
بسبب وجود أكثر من زمرة مشحونة في تركيب الحمض الأميني فإن الحموض الأمينية تتحلل في المحلات القطبية مثل الماء و لا تتحلل في المحلات غير القطبية مثل الأيتير و البنزن. إن السلسلة الجانبية تؤثر في مدى انحلالية الحمض الأميني وتتنقص الانحلالية كلما زادت طول السلسلة الأليفاتية وتكون درجات الأنصهار للحموض الأمينية مرتفعة وذلك بسبب القوى الأيونية.

- الخواص الضوئية:

تحتوي الحموض الأمينية - ما عدا غليسين- في تركيب جزيئاتها على ذرة كربون ألفا الغير متناظرة, مما يؤدي إلى تشكل متماكين فراغيين أحدهما خيال للآخر في المرآة و يدعيان بالمتخايلات Enantiomers فلكل حمض أميني شكلين فراغيين يؤثران على دوران الضوء المستقطب. إن الحموض من الشكل L هي الوحيدة التي تتواجد في تركيب البروتينات أما الحموض الأمينية من الشكل D فتتواجد بشكل نادر في الطبيعة وذلك في جدار الخلايا البكتيرية وبعض الصادات الحيوية ول تهضم في عضوية (الكائنات الحية). اصطلاحياً تكتب الحموض الأمينية من السلسلة L مع المجموعة الأمينية على يسار الكربون ألفا و الحموض الأمينية مع السلسلة D مع المجموعة الأمينية على يمين الكربون ألفا. يجب الإشارة إلى أن الانتماء إلى السلسلة D أو L ليس له علاقة على الإطلاق مع الجهة التي حسبها يدور الحمض الأميني مستوى الضوء المستقطب . هذا الاتجاه يمكن أن يعين بإشارة (+) أو (-) توضع أمام اسم الحمض الأميني مثال Leucine (-) L.



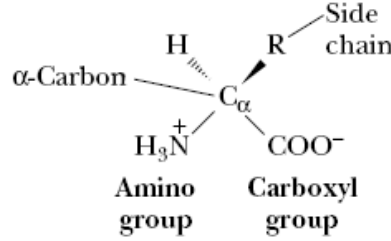
- طيوف الامتصاص: على الرغم من أن أيا من الحموض الأمينية العشرين الموجودة في البروتينات لا يمتص الضوء في المنطقة المرئية فإن ثلاثة حموض أمينية (التيروسين و التربتوفان و الفينيل الالانين) تمتص بشدة في منطقة فوق البنفسجية (UV) . و بالنسبة لأغلب البروتينات الحاوية على التيروسين يكون لقياس امتصاص الضوء عند 280nm بمقياس الطيف الضوئي Spectrometer وسيلة سريعة جداً و مرضية لقياس التركيز البروتيني لمحلول ما. يمتص السيئين بضعف عند 240 nm و المعزو لمجموعة ثنائية الكبريت و جميع الحموض الأمينية تمتص في المنطقة فوق البنفسجية البعيدة (أصغر من 220 nm).



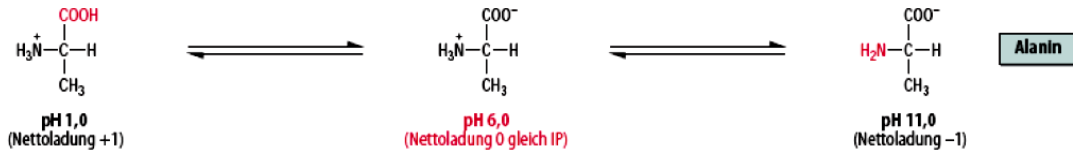
- الخواص التشردية للحموض الامينية:

كما هو واضح من التسمية, تحمل الحموض الأمينية زمرتين وظيفيتين هما الزمرة الكربوكسيلية و الزمرة الأمينية لذلك هي كهربية مذبذب تسلك سلوك حمض و أسس ضعيفة في نفس الوقت. تتواجد الحموض

الأمينية الأليفاتية في المحلول المائي عند وسط معتدل على شكل شوارد ثنائية القطب (Zwitterion) حيث يغادر البروتون الزمرة الكربوكسيلية في الحمض الأميني ليتوضع على ذررة الأزوت في الزمر الأمينية متحداً مع زوج الإلكترونات الحر و مشكلا بذلك شاردة ثنائية القطب.

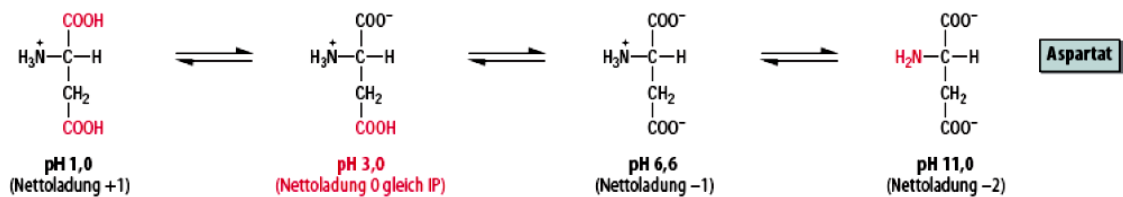


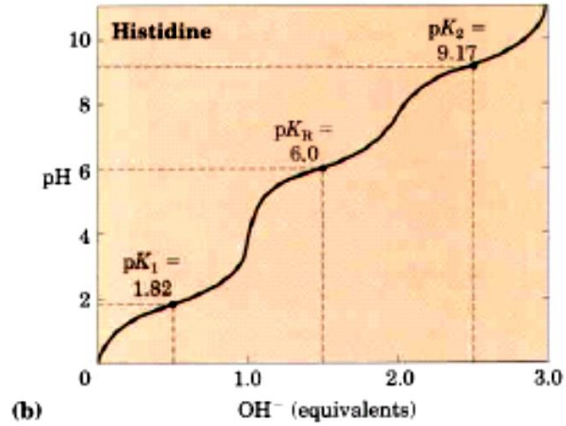
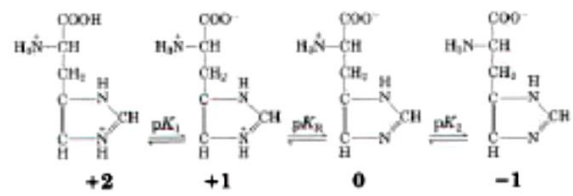
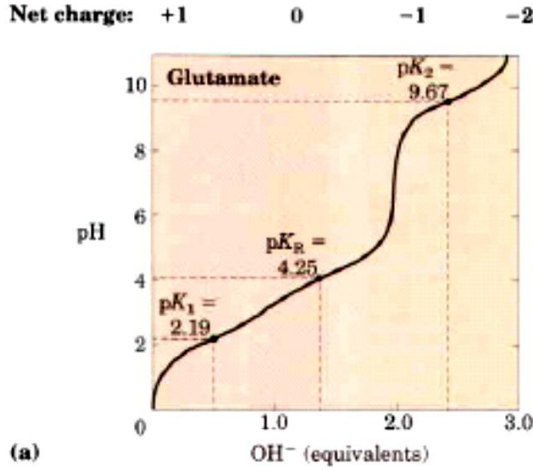
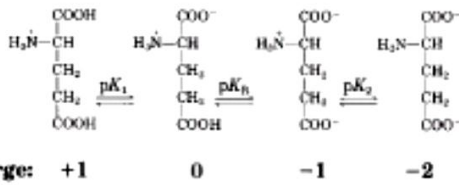
عندما يتم نقل محلول حمض أميني من درجة حموضة منخفضة إلى درجة حموضة مرتفعة تحدث التحولات التالية



بالنظر إلى المعادلة المذكورة أعلاه , يلاحظ أنه تم العبور عبر درجة الحموضة (PH) حيث جزيئات الحمض الأميني تكون بشكل ثنائي قطب (Zwitterion) و حيث الشحنة الصافية للجزيئة تكون معدومة , نقطة التعادل الكهربائي للحمض الأميني Isoelectric Point. عند درجة الحموضة هذه تكون انحلالية أصغرية , و لا يهاجر إذا ما وضع في حقل كهربائي. لم نتحدث حتى الآن إلا عن المجموعات الكربوكسيلية و الأمينية , لكن توجد في الحموض الأمينية مجموعات أخرى قابلة لأن تتشرد فإلى جانب المجموعة الغوانيدية للأرجنين (PK= 12.5) يمكن ذكر الهيدروكسيل الفينولي للتيروزين (PK= 10.07) ... كما نلاحظ بالجدول التالي لباقي الحموض الأمينية

| Amino acid | Abbreviation/ symbol | M_r | pK_a values | | | pI |
|----------------------------|-------------------------|-------|------------------------------|--------------------------------|------------------------|-------|
| | | | pK_1 ($-\text{COOH}$) | pK_2 ($-\text{NH}_3^+$) | pK_R (R group) | |
| Nonpolar, aliphatic | | | | | | |
| R groups | | | | | | |
| Glycine | Gly G | 75 | 2.34 | 9.60 | | 5.97 |
| Alanine | Ala A | 89 | 2.34 | 9.69 | | 6.01 |
| Proline | Pro P | 115 | 1.99 | 10.96 | | 6.48 |
| Valine | Val V | 117 | 2.32 | 9.62 | | 5.97 |
| Leucine | Leu L | 131 | 2.36 | 9.60 | | 5.98 |
| Isoleucine | Ile I | 131 | 2.36 | 9.68 | | 6.02 |
| Methionine | Met M | 149 | 2.28 | 9.21 | | 5.74 |
| Aromatic R groups | | | | | | |
| Phenylalanine | Phe F | 165 | 1.83 | 9.13 | | 5.48 |
| Tyrosine | Tyr Y | 181 | 2.20 | 9.11 | 10.07 | 5.66 |
| Tryptophan | Trp W | 204 | 2.38 | 9.39 | | 5.89 |
| Polar, uncharged | | | | | | |
| R groups | | | | | | |
| Serine | Ser S | 105 | 2.21 | 9.15 | | 5.68 |
| Threonine | Thr T | 119 | 2.11 | 9.62 | | 5.87 |
| Cysteine | Cys C | 121 | 1.96 | 10.28 | 8.18 | 5.07 |
| Asparagine | Asn N | 132 | 2.02 | 8.80 | | 5.41 |
| Glutamine | Gln Q | 146 | 2.17 | 9.13 | | 5.65 |
| Positively charged | | | | | | |
| R groups | | | | | | |
| Lysine | Lys K | 146 | 2.18 | 8.95 | 10.53 | 9.74 |
| Histidine | His H | 155 | 1.82 | 9.17 | 6.00 | 7.59 |
| Arginine | Arg R | 174 | 2.17 | 9.04 | 12.48 | 10.76 |
| Negatively charged | | | | | | |
| R groups | | | | | | |
| Aspartate | Asp D | 133 | 1.88 | 9.60 | 3.65 | 2.77 |
| Glutamate | Glu E | 147 | 2.19 | 9.67 | 4.25 | 3.22 |

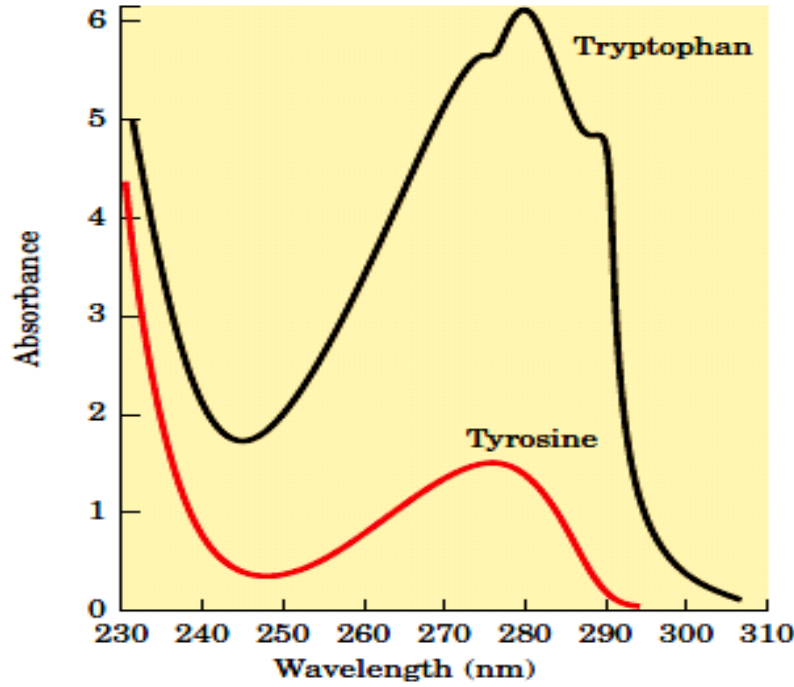




في البروتينات ، ما عدا كل نهاية ، تكون المجموعات ألفا -أمينو و ألفا- الكربوكسيلية مشتركة في الروابط الببتيدية و لا يمكن أن تتشاردا لذا فإن المجموعات القابلة للتشرد للسلاسل الجانبية هي التي تساهم بشكل أساسي في اضعاء الشحنة على الجزيئة الضخمة و حسب درجة الحموضة فإن بروتينا معيننا يمكنه أن يكون مشحون ايجابيا أو عديم الشحنة . إذ يكون لبروتين معين نقطة تساوي الكهربائي حيث لا يهاجر البروتين ما وضع في حقل كهربائي . إن نقطة التعادل (التساوي) الكهربائي هذه (PHi) تكون منخفضة إذا كان البروتين يمتلك زيادة من المجموعات الكربوكسيلية ، بينما تكون مرتفعة في حالة بروتين يمتلك زيادة من المجموعات الامينية.

■ طيوف الإمتصاص:

الحموض الأمينية العشرين الموجودة في البروتينات لا تمتص الضوء في المنطقة المرئية، فإن ثلاثة حموض الأمينية التيروسين ، تربتوفان ، فينيل ألانين تمتص بشدة في منطقة فوق البنفسجية و بالنسبة لأغلب البروتينات الحاوية على التيروسين يكون قياس امتصاص الضوء عند طول الموجه 280nm بمقياس الطيف الضوئي و سيلة سريعة جدا و مرضية لقياس تركيز محلول بروتيني و جميع الحموض الأمينية تمتص في المنطقة فوق البنفسجية البعيدة .

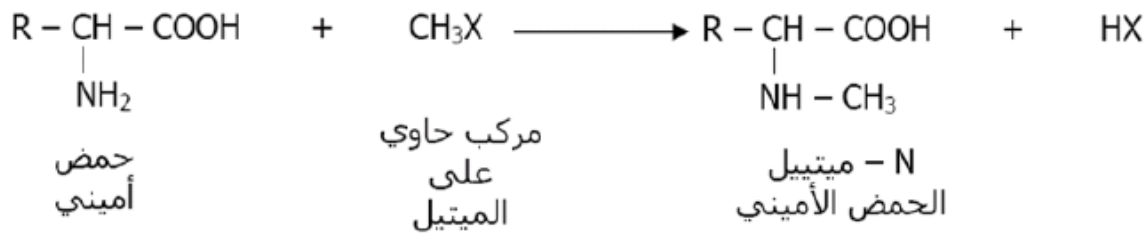


- الخواص الكيميائية:

تمتلك الأحماض الأمينية , كما و جدنا , على مجموعات وظيفية هي المجموعات الوظيفية الكربوكسيلية ألفا و الأمينية ألفا و تلك الموجودة في السلاسل الجانبية R. و تحدد هذه الوظائف نمط التفاعلات الكيميائية التي تدخلها الأحماض الأمينية, حيث يمكن لكل من هذه الوظائف أن تشارك في كل التفاعلات الكيميائية المميزة له. وتشمل هذه التفاعلات على تفاعلات الزمرة الكربوكسيلية كالتأين و تشكيل أميداتإلخ. كما تضم أيضاً تفاعلات التأين و الكلة و أسيلة للزمرة الأمينية , و أكسدة و الكلة زمرة الثيول و أسترة و فسفرة زمرة الهيدروكسيل.....إلخ.

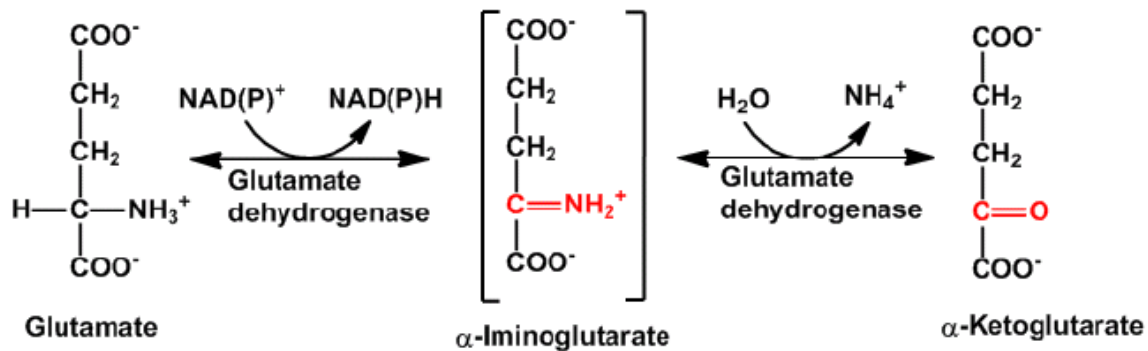
1- التفاعلات الزمرة الامينية: تعتبر المجموعة الأمينية كاشف نيكليوفيلي قويا بسبب وجود زوج الكتروني حر و خواصها تكون متماثلة سواء كانت مجموعة الأمين في الموقع ألفا أو في السلسلة الجانبية للحمض الأميني و سنتطرق لأهم تفاعلاتها:

▪ **المتيلة:** يمكن لذرات الهيدرجين المجموعة الأمينية أن تستبدل بجذور المتيل , حيث يمكن ان نحصل على مشتقات N- أحادية الميتيل أو N- ثنائية الميتيل أو N- ثلاثية الميتيل . تدعى المركبات الغنية بالجذور الميتيلية بالبيتائينات Betaines و هي من المركبات الواهبة لمجموعة المتيل . حيث يقوم الكبد بعمليات إزالة السمية في الجسم عن طريق متيلة المركبات السامة الداخلة إلى الجسم لتتحول إلى مركبات أسهل طرْحاً



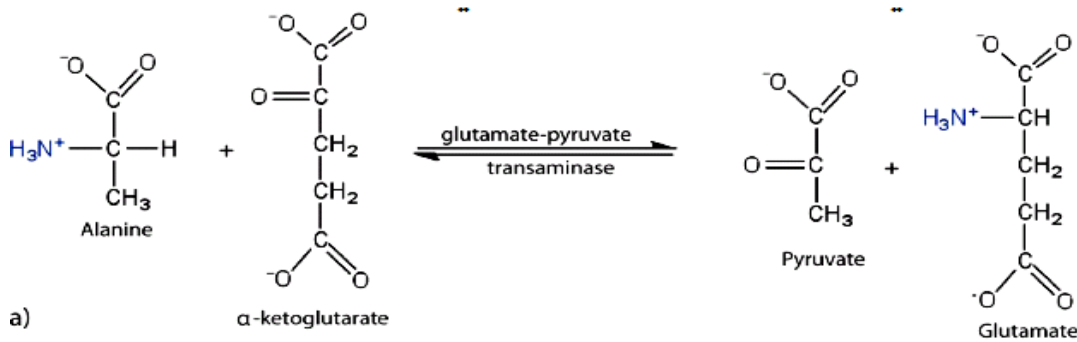
■ نزع الأمين التأكسدي Desamination oxidative:

إن عملية نزع أمين التأكسدي للجلوتامات تتم في الكبد و الكلية عند الإنسان و تحفز بواسطة إنزيم نازع الهيدرجين الجلوتامات Glutamate dehydrogenase و الذي يحتاج إلى NAD^+ محولاً إياه إلى ألفا-كيتو غلوتارات و الأمونيا



■ نقل الأمين (Transamination)

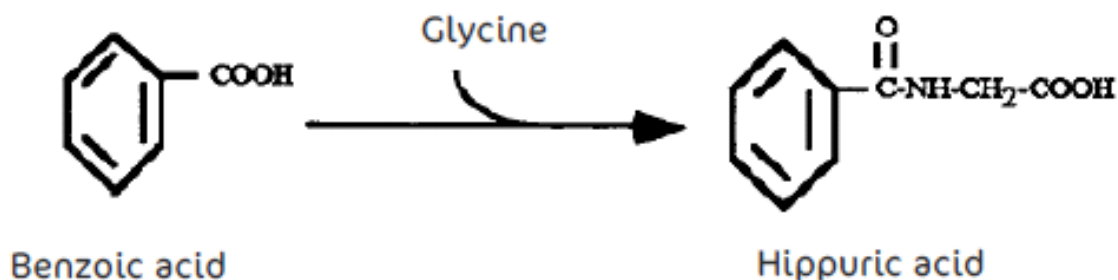
تتعرض الحموض من نوع ألفا-كيتو حمض الموجودة في الخلايا لبعض التحولات , التي تؤدي إلى اصطناع حموض أمينية جديدة , عن طريق نقل زمرة أمينية من حمض أميني آخر كما هو موضح بالتفاعل التالي



يتم ذلك بوجود الإنزيم Transaminase و يرافق عمله فيتامين البيرودوكسال فوسفات (B6). نلاحظ أن البيروفات هو الحمض ألفا-الكيتوني المرافق للألانين و أن حمض ألفا-كيتو غلوتارات هو الحمض الكيتوني الموافق للجلوتامات.

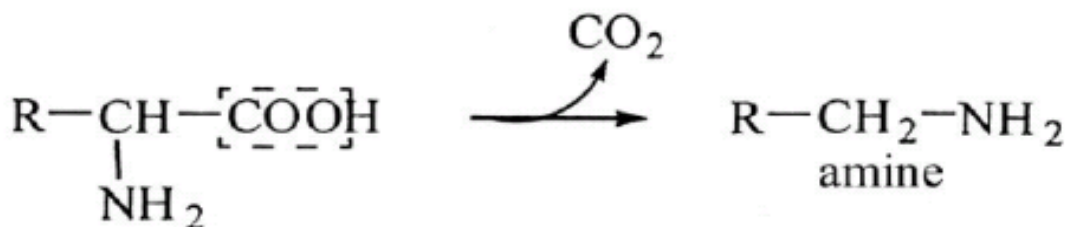
■ تفاعل الحمضنة أو نزع السمية :

يعتبر هذا التفاعل أساس عمليات لتخليص الجسم من المواد السامة و طرحها خارج الجسم . حيث يتم في الكبد ربط المركب الأوروماتي مثل حمض البنزويك إلى الزمرة الأمينية للحمض الأميني الغلايسين Gly ليشكل مركب منزوع السمية ليتمكن الجسم من طرحه عبر الكلى إلى خارج الجسم.



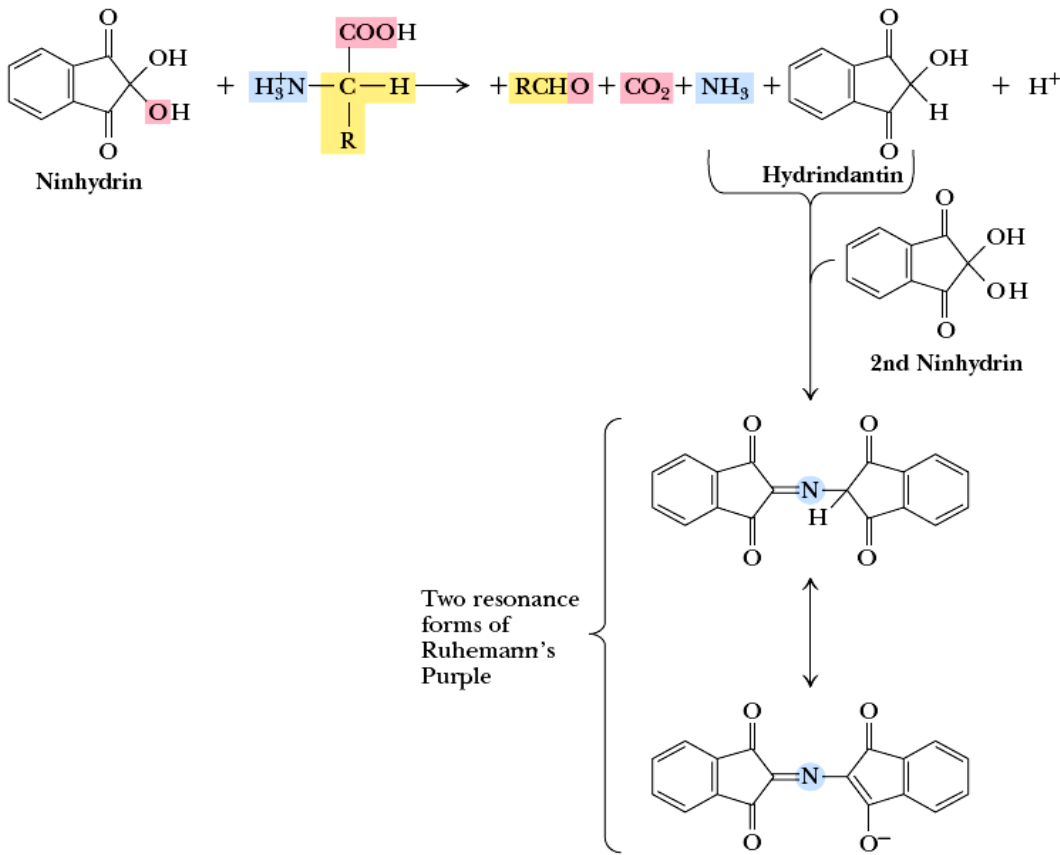
2- تفاعل نزع الكربوكسيل:

يمكن لهذا التفاعل أن يجرى في المختبر , لكنه يحدث لإنزيميا في الخلايا الحية و يفضي ألى تشكيل أمينات تدعى الأمينات المتناقلة . إن هذا التفاعل يتم بوجود إنزيم دي كربوكسيلاز Decarboxylase الذي يتواجد في بكتريا الأمعاء و في النسيج الحيوانية و المرافق الإنزيمي هو البيروكسال فوسفات . إن الأمينات المتناقلة ذات أهمية بيولوجية مثل دوبامين الناتج عن دوبا أو السيروتونين الناتج عن نزع الازمرة الكربوكسيلية للحمض الأميني التربتوفان . بينما ينتج عن نزع زمرة الكربوكسيل للهستيدين المركب الهيستامين.

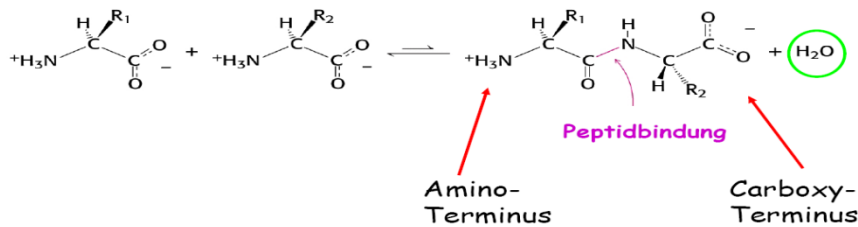


3- التفاعلات الناجمة عن وجود الزمرتين الأمينية و الكربوكسيلية معاً:

- التفاعل مع النهدرين أن لهذا التفاعل أهمية كبيرة لأنه تفاعل لوني و مستخدم بشكل كبير لكشف و معايرة هذه المركبات حيث يعطي مركبا بنفسجي مع الحموض الأمينية ما عدا البرولين و هيدروكسي البرولين يشكلان معقدات صفراء معه.



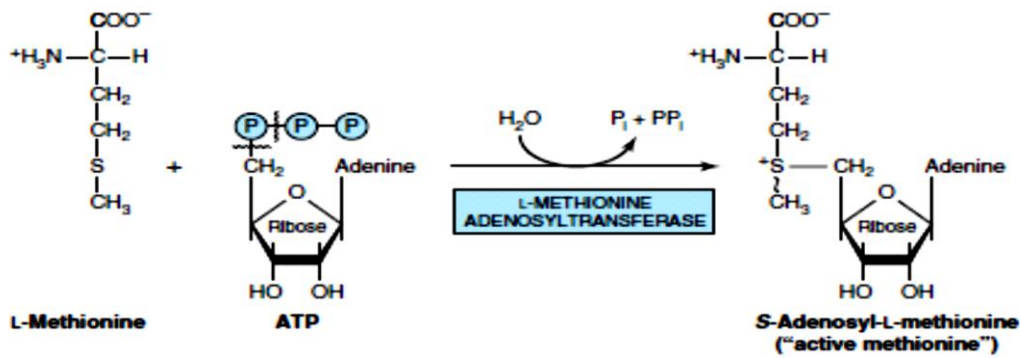
- التفاعل مع الشوارد المعدنية تتفاعل كربونات أو خلات النحاس مع الحموض الأمينية في المحاليل المائية وتعطي لونا أزرق والمعدن الناتج هو ناتج عن ارتباط النحاس مع الزمرة الكربوكسيلية فقط بينما الارتباط مع الأزوت يتم بواسطة روابط تسانديه.
- تشكيل الروابط الببتيدية: ويتم تشكيلها بحذف جزيء ماء بين المجموعتين المتجاورتين من NH_2 و COOH العائدين لحمضين أميين لتشكل ثنائي ببتيد.



4- التفاعلات الناجمة عن وجود زمرة وظيفية في السلسلة الجانبية R:

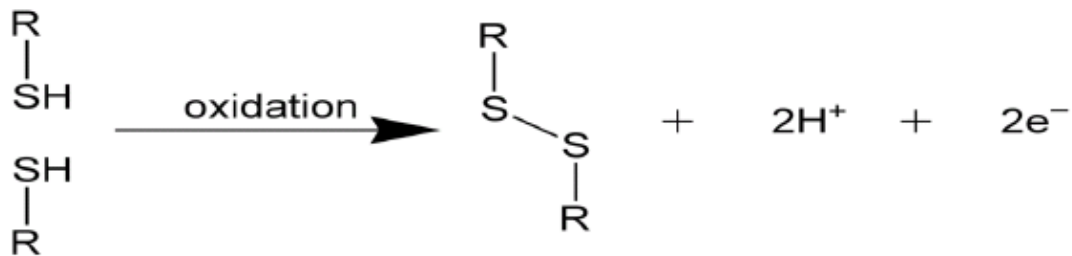
من الواضح - بسبب كون جميع الوظائف ألفا -الكربوكسيلية و ألفا -الأمينية تقريبا للحموض الأمينية مشتركة في روابط ببتيدية - أن السلاسل الجانبية (R) هي التي تضيف بشكل أساسي خواصها الكيميائية على الببتيدات و البروتينات و منها

- تفاعلات نقل الميثيل Transmethylation: في هذه التفاعلات يلعب الميثيونين الفعال S-adenosyl methionins دوراً واهب لزمرة الميثيل لتشكيل مركبات أخرى هامة بيولوجياً و ذلك في تنظيم التعبير الجيني , في اصطناع كل من الكرياتين , الايبينفرين , الميلاتونين , الساركوزين , كارنيتين , استقلاب المواد الغريبة , تشكيل الفلنسوة عند النهاية (5-Cap) ل mRNA . حيث يتشكل الميثيونين الفعال من تكاثف الميثيونين مع ال ATP .



- تشكيل الرابطة ثنائية الكبريت Disulfide Bond:

الزمرة الثيولية للسيستئين Cys يمكن أن تتأكسد و تشكل الجسور ثنائية الكبريت و هي تكون هامة من أجل من أجل البنية الثالثة للبروتينات و كذلك سنشاهدها في بنية بعض الببتيدات

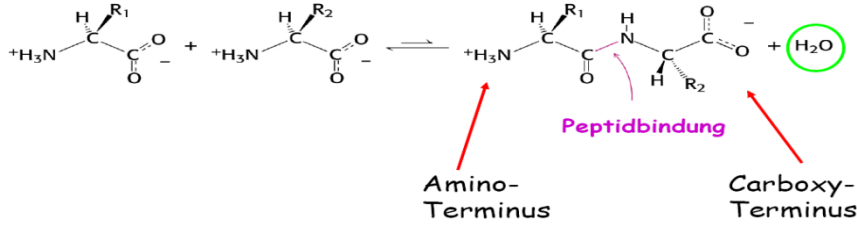


- تفاعلات زمرة الهيدروكسيل:

يمكن أن تتأثر بحمض الفوسفور الزمرة الهيدروكسيلية للبروتينات الحاوية الحموض الأمينية (التيروسين , السيرين)

الببتيدات Peptides

هي جزيئات حيوية تنتج عن عملية تكاثف بين الزمر الأمينية لحمض أميني ما مع الزمرة الكربوكسيلية لحمض أميني آخر, عبر رابطة تكافؤية تسمى بالرابطة الببتيدية أو الرابطة الاميدية و ذلك بعد حذف جزيئة ماء.



تصنف الببتيدات إلى

✓ قليلة التعداد Oligopeptides عبارة عن ببتيدات ثنائية , ثلاثيةحتى 10 ثملات من الحموض الأمينية.

✓ كثيرة التعداد Polypeptides ترتبط ثملات الحموض الأمينية مع بعضها حتى 100 حمض أميني

2- خواص الببتيدات:

- إن الرابطة الببتيدية تكون بشكل أساسي مستوية في الفراغ , أي توجد ست ذرات من الرابطة الببتيدية المشكلة للثنائي الببتيد (مكون من ارتباط حمضين أمينيين) في نفس المستوي:

▪ ذرة الكربون ألفا و الزمرة CO للحمض الأميني الأول

▪ الزمرة NH و ذرة الكربون ألفا للحمض الأميني الثاني

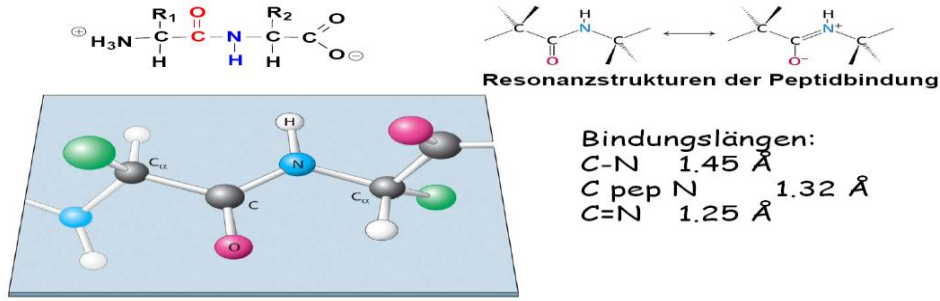
- ساعدت الدراسات التي قدمها Pauling و زملائه بأشعة السينية لجزء من البروتين في وصف بنية

الرابطة الببتيدية. أن طول الرابطة بين الزمرة CO و NH تساوي 1.32 Å وهذه القيمة تتوسط القيم

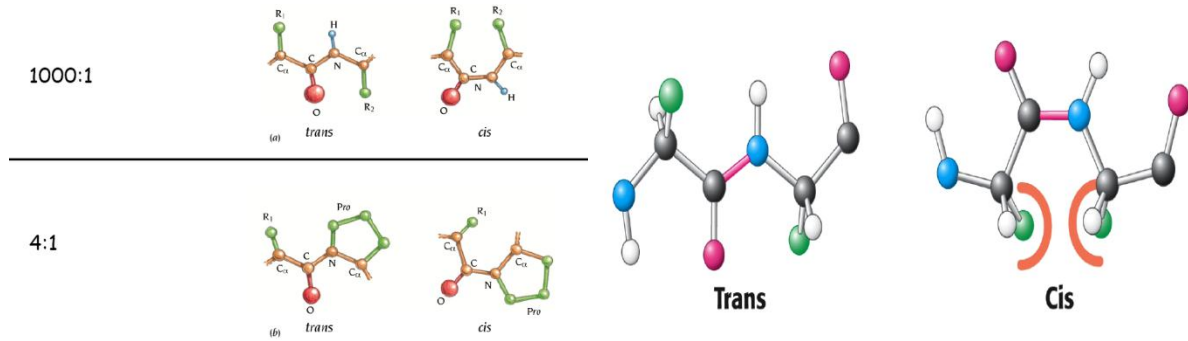
المتوقعة لطول الرابطة الأحادية C-N (1.49 Å) و الرابطة المضاعفة بين الكربون و الآزوت N (1.27 Å)

لذلك تتميز الرابطة الببتيدية ببنية طينية تؤدي إلى رابطة مضاعفة مميزة لا تستطيع الدوران

حول نفسها فأما الروابط الأحادية المجاورة للرابطة الببتيدية فتكون حرة الدوران.



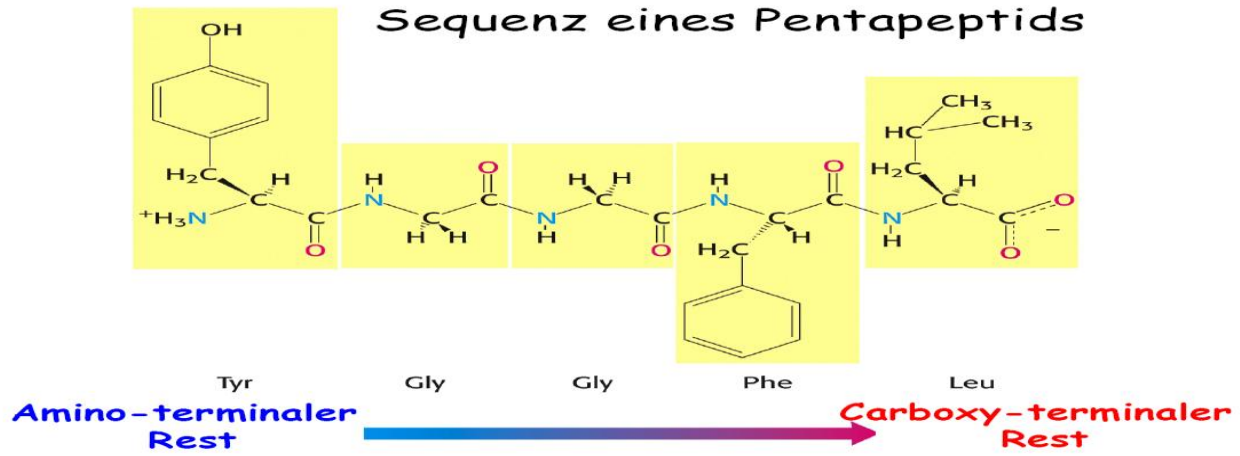
و بالتالي تملك الرابطة المستوية تكوينين محتملين في الفراغ هما : التكوين المفروق (Trans) و التكوين المقرون (Cis). تكون غالبية الروابط الببتيدية في البروتينات (عدا بروتين ذات التكوين المفروق).



2.2 متعدد الببتيد

هو ارتباط عدد من حموض أمينية مع بعضها بروابط ببتيدية, عندما يكون عدد الحموض الأمينية قليلة (أقل من 10 حمض أميني) فيطلق عليها بال Oligopeptides أو قليل التعدد وللتبسيط يدعى بالببتيد. ولقد اتفق على أن سلسلة متعدد الببتيد تبدأ اعتباراً من اليسار من الحمض الأميني الذي يملك زمرة أمين حرة لذلك يطلق عليها بالنهاية الأمينية (النهاية N), وتنتهي سلسلة متعدد الببتيد بالحمض الأميني الذي يملك زمرة الكربوكسيل حرة لذلك تدعى بالنهاية الكربوكسيلية (النهاية C). ولتسمية الببتيدات يستبدل الحرف الأخير (ن) في الحمض الأميني الذي فقد زمرة الكربوكسيلية بالنهاية (ل) ويحافظ الحمض الأميني الأخير (النهاية C) الذي حافظ على زمرة الكربوكسيلية على اسمه.

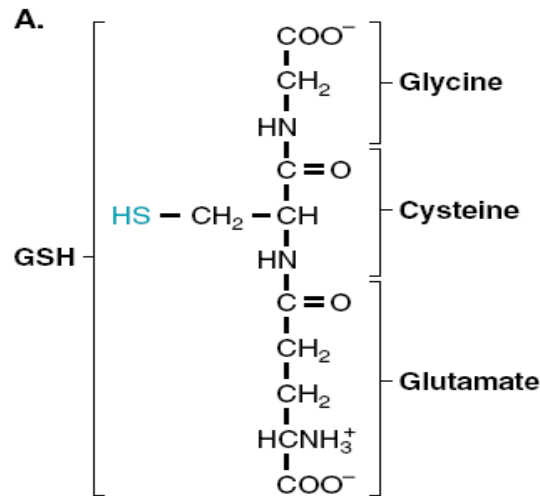
مثال يدعى الببتيد المؤلف من خمس حموض أمينية الموضح بالشكل تيروزيل- غليسيل- غليسيل- فينيل ألانيل- لوسين.



3. بعض الببتيدات ذات فعالية حيوية:

تحتوي الخلايا الحيوانية والنباتية و الجرثومية مجموعة متنوعة جداً من عديدات الببتيد ذات الوزن الجزيئي المنخفض (المؤلف من 3-100 ثمانية حمض أميني) حيث لهذه المركبات ذات فعالية حيوية بالغة الأهمية.

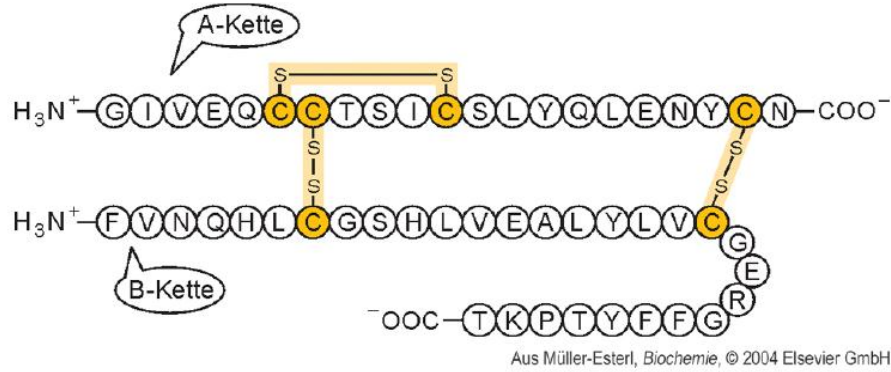
الغلوتاثيون Glutathione: ويرمز له GSH وهو غاما-غلوتاميل-سيستينيل- غليسين , ينظم تفاعلات الأكسدة و الإرجاع في الخلايا, ويهدم الجذور الحرة المخربة من خلال تفعيل العوامل المؤكسدة, وهو ضروري لظهار فعالية الانسولين, يتواجد في الدم و العضلات والخميرة وفي معظم خلايا الجسم الحي.



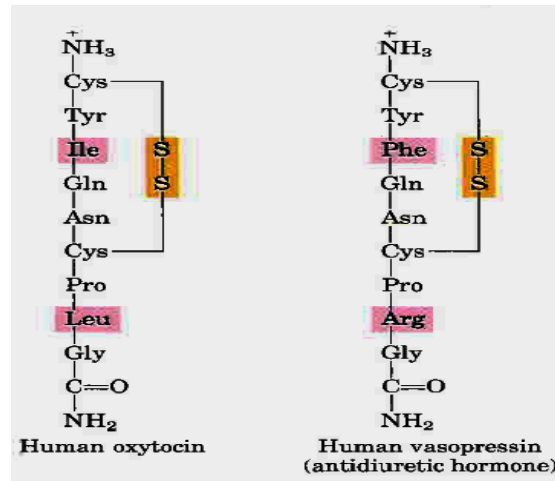
δ -glutamyl-cysteinyl-glycine

الأنسولين Insulin: إنه هرمون نقص سكر الدم يتم اصطناعه في البنكرياس و يتألف من سلسلتين ببتيديتين يرتبطان مع بعضهما البعض بواسطة جسرين كبريتي تحوي السلسلة A على 21 حمض أميني و يرتبط

الحمض الأميني السادس مع الحمض الأميني الحادي عشر بجسر كبريتي بين ثمالي سيستئين . بينما تحوي السلسلة B على 30 حمض أميني . إن صيغة الإنسولين لا تحوي على حمضي الأمين الترتوفان أو الميثيونين. أن تسلسل الحموض الأمينية في الإنسولين عند الحيوانات الأخرى مشابه لأنسولين البشري ما عدا الحموض الأمينية 8 و 10 في السلسلة A و الحمض الأميني 30 في السلسلة B.



هرمونات الغدة النخامية الخلفية: تفرز هذه الغدة هرمونين الأوكسيتوسين Oxytocine و الفازوبريسين Vassopressin و هي عبارة عن ببتيدات تحوي تسع حموض أمينية و تركيبها كالتالي :



نلاحظ أن الفرق بينهما حمضين أميين هما اللوسين و الإيزولوسين في الأوكسيتوسين بينما في الفازوبريسين الفينيل ألانين و الأرجينين أنه من المفيد التنوع إلى أن اختلافات بنيوية زهيدة تترجم باختلافات هامة في الفعالية البيولوجية, في الواقع فإن الأوكسيتوسين يحرض تقلص العضلة الرحمية في حين أن الفازوبريسين يرفع الضغط الدموي و يملك تأثيرا مضادا لإدرار البول

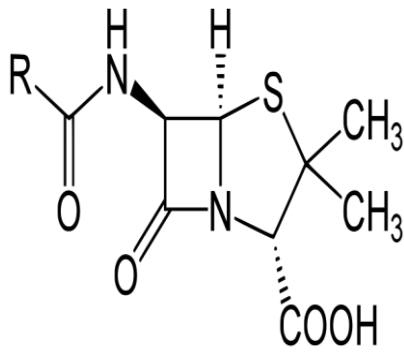
الكاليدين: يتألف من عشرة حموض أمينية, يعد من مركبات خافضة لتوتر العضلات الملساء و خافضة للتوتر الشرياني

Lys-Arg-Phe-Pro-Ser-Phe-Gly-Pro-Pro-Arg

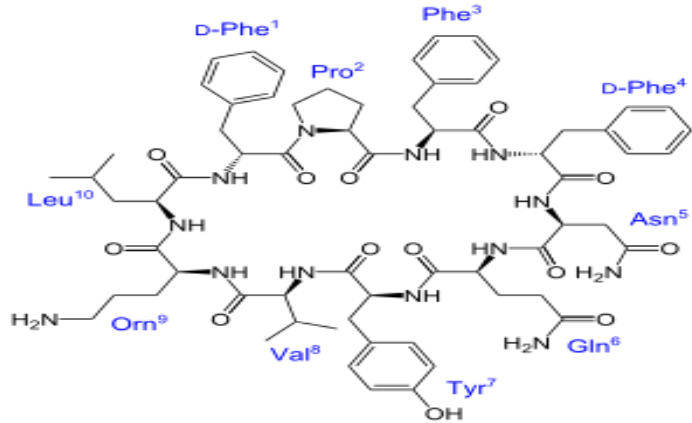
البراديكينين Bradykinine: يعيق الإفراز المعوي و قدرة الترك المعوية ويحرض الاليف في الألام و يسلك دورا وسيطيا في التفاعلات الإلتهابية, يتألف من تسعة حموض أمينية

Arg-Phe-Pro-Ser-Phe-Gly-Pro-Pro-Arg

المضللات الحيوية ذو البنية الببتيدية: تم تحضير مثل هذه المركبات من المزارع البكتيرية و تحتوي غالبا على حموض أمينية من المجموعة D و تبدي غالبا تركيبا حلقيا و يعرف عدد كبير منها ذات فعالية كبيرة و منها: التيروثريسين, البنسلين, الغراميسيدين.



Pencillium



Tyrocidine A

البروتينات Proteins

1- مقدمة:

البروتين (Protein) اسم مشتق من الكلمة اليونانية (Proteios) و تعني المكان الأول. و إذا ما قارنا عدد الحموض الأمينية التي تشكل البروتينات بعدد الأحرف الأبجدية التي تشكل لغة بكاملها تربط علاقات ملايين من البشر , عرفنا أهمية هذه البروتينات وتعدد إمكانات تشكلها في الطبيعة وتعرف البروتينات كيميائيا بأنها بوليميرات متشكلة من اتحاد حموض أمينية أو ببتيدات متعددة تربط بعضها ببعض مشكلة سلسلة ضخمة. تتواجد البروتينات في جميع الكائنات الحية , وتشكل (55-60) % من مكونات جسم الكائن .

2- الأهمية البيولوجية للبروتينات Biological importance of proteins:

تتميز البروتينات بأنها أكثر الجزيئات غزارة في الجمل الحية تتراوح نسبتها بين (55-65) % من بنية المادة الحية للخلية, و توجد في كل الخلايا الحية و تولف الجزء الرئيسي من الجلد و العضلات و الأوتار و الأعصاب و الدم , الشعر تسهم في التوازن التناضحي لأن البروتينات تعطي عند انحلالها في الماء محلولاً غروانيا و يسمى الضغط الذي تحدته بروتينات البلازما و بالأخص منها الألبومين الضغط الجرمي Oncotic Pressure.

3- أنواع البروتينات و أهم وظائفها:

1- البروتينات الإنزيمية و تعمل كمحفزات بيولوجية

2- بروتينات التخزين كالميوجلوبيين (خضاب العضلات) و الفريتين الذي يستطيع تخزين حوالي 4500 ذرة حديد

3- بروتينات النقل و التخزين كالهيموجلوبيين و بروتينات البلازما مثل الألبومين الذي يقوم بنقل الكثير من المواد و الشوارد و الأدوية , ترانسفيرين (ينقل الحديد) , سيروبلازمين (ينقل النحاس).

4- البروتينات المنظمة حيث ترتبط بال DNA لتنظيم فعاليته.

5- بروتينات البنيوية و هي بروتينات مسؤولة عن حمل وربط الجسم مع بعضه البعض و هي بروتينات ليفية تكون على هيئة جزيئات مستقيمة تعطي تركيبات مرئية كما في بروتينات أوتار العضلات – من البروتينات الليفية - كالكولاجين و الايلاستين .

6- بروتينات الحركة مثل الاكتين و الميوزين يعمل على تقلص العضلات

7- البروتينات المناعية : الأضداد و الفلوبولينات المناعية

8- هرمونات كالانسولين , الغلوكاكورن , حاثات الموجه للدرق.....

9- تعتبر مصدر للطاقة بعد السكريات و الشحميات

و تصنف البروتينات بعدة طرق تبعاً ل:

❖ للتركيب وتقسّم على قسمين:

(1) بروتينات بسيطة ومؤلفة فقط من حموض أمينية مثال ألبومين المصل

(2) بروتينات معقدة: وتتألف من جزيء بروتيني مرتبطاً معه جزء غير بروتيني (يدعى الضميم)

وينتمي إلى هذه الفئة: بروتينات سكرية (مثال الحليب), بروتينات شحمية , بروتينات نووية,

بروتينات صباغية , بروتينات معدنية, وأخيراً بروتينات فوسفورية.

❖ للشكل الفراغي:

(1) بروتينات ليفية: مثل الكولاجين , الميوزين, الكيراتين.

(2) بروتينات الكروية: أنزيمات , ألبومينات, غلوبولينات

❖ للوظيفة الحيوية: مستقبلات حيوية , بروتينات مناعية, بروتينات ناقلة. بروتينات وسائطية,

بروتينات هيكلية بنوية.

❖ التصنيف بدلالة الإنحلالية: وهو محدود الاستخدام في الكيمياء الحيوية السريرية و تصنف إلى:

- الألبومينات Albumins: الحلولة في الماء و المحاليل الملحية إنها تترسب بواسطة إضافة

كبريتات الأمونيوم بين 70-100% من الأشباع , وتكون نقطة التعادل الكهربائي أقل من السبعة ()

ألبومين الموجود في البيض 4.7 و ألبومين المصلي 5.3) وهي تعد من بروتينات البسيطة و

تلعب دوراً هاماً في الحفاظ على الضغط الحلولي للدم و تنقل الشحوم و الفيتامينات غير الذوابه

بالماء و الجزيئات غير الحلولة في الوسط المائي و له أهمية في الضغط الجرمي (الغرواني) على

الوعاء الدموي .

- الغلوبولينات Globulines: تذوب بصورة ضعيفة في الماء , لكن تذوب في المحاليل الملحية

الممددة (مثلاً 5% من NaCl) و لكنها تترسب بمحلول كبريتات الأمونيوم ذو تركيز 50%.

وهي من بروتينات الكروية تتواجد في بياض البيض و النسيج العضلي و بلازما الدم و تمثل

مجموعة من بروتينات مناعية و إنها غالباً عبارة عن بروتينات سكرية أو بروتينات شحمية.

- البروتامينات Protamines و الهيستونات Histones: أنها تذوب في المحاليل الملحية و حوله

بشكل ضعيف نسبياً في الماء , مميزة بصفة قلوية واضحة جداً و يعزى ذلك لوجود نسبة مرتفعة

من الحموض الأمينية القلوية مثل الليزين و الأرجنين مما يضيفي عليها نقطة التعادل الكهربائي

مرتفعة (حوالي 11) و بسبب هذه الخاصية القلوية فإنها تستطيع أن تتحد مع عدة مركبات حمضية (حموض النووية و بروتينات الحمضية)
- البرولامينات (الغلايدينات) Prolamines: أنها بروتينات نباتية تمتاز بغناها بحمض غلوتاميك و البرولين وهي غير حلولة في الماء أو في المحاليل الملحية و لكنها تذوب في الكحولات.
- الغلوتيلينات Glutelines: هي من بروتينات النباتية و تكثر في الطحين لا تنحل في المحاليل الملحية أو الماء و لكن تذوب في المحاليل الحمضية أو الأساسية الممددة.

3- فصل و تحليل المزيج البروتيني:

قام العالم فريدريك سنجر بوضع تسلسل الأحماض الأمينية للأنسولين – وهو أول بروتين تم الكشف عن بنيته عام 1953م وشكل هذا العمل نقطة تحول في تاريخ الكيمياء الحيوية. بعد تجربته سينجر اندفع العلماء بشدة لمعرفة تركيب طيف واسع من البروتينات. فمعرفة تركيب وبنية البروتين يمكن توضيح وظيفته على المستوى الجزيئي وكذلك كشف المرض على المستوى الجزيئي إذ إن أي تغيير في التسلسل للبروتين يمكن أن ينتج وظيفة حيوية غير طبيعية وبالتالي مرض كمثل على ذلك ينتج الخضاب الدم المنجلي عن تبديل حمض أميني واحد فقط وهو الحمض الأميني (حمض الغلوتاميك) إلى الحمض الأميني فالين في الموقع السادس من سلسلة بيتا غلوبين للخضاب الطبيعي. ولدراسة البروتين لابد من فصل البروتين من مزيج من البروتينات المادة.

فصل البروتين:

واحدة من الصعوبات التي تعترض الكيميائيين هي دراسة البروتينات في النسيج و السائل البيولوجي و فصل مختلف البروتينات الواحدة عن الأخرى. هذا يعني الفصل و من ثم في بعض الحالات تحضير بروتين هام لأجل خواصه البيولوجية في الحالة النقية و التأكد من هذه النقاوة بالطرق الخاصة .
عندما تفصل خلايا عن نسيج فالمرحلة تكمن عادة في السحق و التجانس متبوعة بالفصل من أجل التخلص من الجزيئات الصغيرة الموجودة في الوسط . تستخدم طرق متعددة و متعاقبة للفصل.
- الترسيب: إن سلفات الأمونيوم و الفوسفات القلوية بتركيز عالية ترسب البروتينات. باستعمال أملاح ذات تراكيز متزايدة تحرض هذه على ترسيب البروتينات الأكثر فالأكثر انحلالية.
- الترسيب بالتعادل الكهربائي : تفحص ال PH الوسط حيث تميل البروتينات بالقرب من نقطة التعادل الكهربائي للترسيب و من ثم نستطيع أن نفصل البروتينات ذات الاختلاف الكبير بقيم ال PHi.
- الكروماتوغرافيا: استعملت طرق كروماتوغرافية مميزة و لكن الافضل HPLC التي تعطي فصل اسرع و أكثر تفريقاً

- الكروماتوغرافيا الكارة للماء: تُثبت السلاسل الهيدروكربونية غير القطبية على الحامل . تطرد البروتينات بالتتابع بالسوائل القطبية . بالطرد الانتقائي و بمساعدة مجمع للأجزاء نستطيع الحصول على بروتينات مفصولة و أحيانا نقية.
- الكروماتوغرافيا على مبادل الشوارد: البوليمرات المستعملة في فصل الحموض الأمينية لا تستخدم هنا لأن حلقاتها مرصوفة لا تساعد على انسياب البروتينات . حلت هذه المشكلة بالتثبيت على حامل سيلولوز ذو

مجموعات وظيفية شاردية (طور ثابت في الثابت الكروماتوغرافيا) . تعتمد هذه الطريقة من الكروماتوغرافيا على خاصية الادمصاص و التبادل الأيوني في الوقت نفسه . يستعمل في الطور الثابت (أي داخل العمود الكروماتوغرافي دي إيتيل أمينو إيتيل السيلولوز كمبادل أيوني و كربوكسي متيل السيلولوز كمبادل كاتيوني . تسكب البروتينات المنحلة في الوعاء على العمود وبإضافة الطور المتحرك ذي PH المتغير مع الزمن , متزايد أو متناقص , تفصل البروتينات وفق شحنتها .

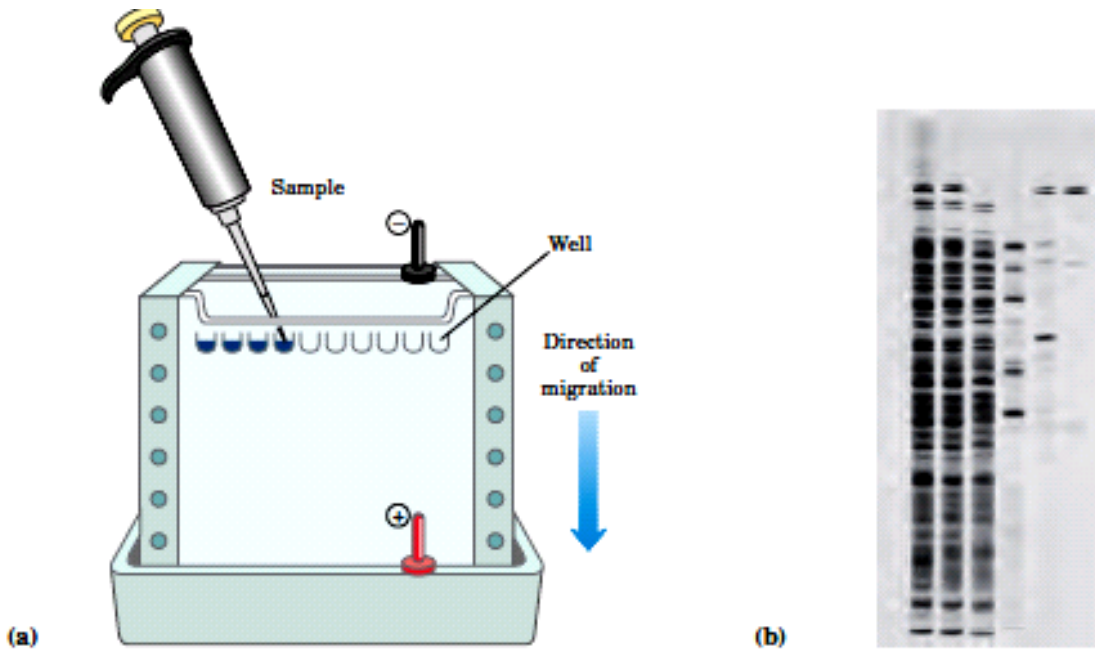
• الكروماتوغرافيا بالطرد: تساعد في فصل البروتينات وفق كتلتها الجزيئية و بالتالي البروتينات ذات الوزن الأثقل تخرج أولاً .

• الكروماتوغرافيا الالفة: عندما يكون للبروتين قابلية الإرتباط بشكل ملائم جداً مع مركب معين , يثبت هذا المركب بطريقة تكافؤية مع حبيبات بوليمير خامل حيث يوضع في العمود الكروماتوغرافي (طور الثابت) . عند سكب المزيج البروتيني فإن البروتين الذي يرتبط مع المركب يثبت فقط وتخرج بقية البروتينات و بعد ذلك نستطيع نزعها بطارد مناسب .

- التبلور: تساعد هذه الطريقة أحيانا في الحصول على بروتين نقي . فقد تم اصطناع بروتينات إنزيمية بدرجة عالية من النقاوة وفق هذه الطريقة و تتم البلورة غالبا بوسط قلوي مركز .

- الترسيب بالمضادات الخاصة: يمكن ترسيب بروتين من مزيج من البروتينات بإضافة مضادات أحادية الخصوصية محضرة بطريقة تهيئية

- الرحلان الكهربائي: تهجر البروتينات عندما توضع داخل حقل كهربائي , إذا كانت درجة الحموضة أكبر من نقطة التعادل الكهربائي , فإن البروتين مشحون سلبيا يهاجر نحو المصعد (Anods) , أما إذا كانت درجة الحموضة أصغر من نقطة التعادل الكهربائي , فإن البروتين مشحون إيجابياً ويهاجر نحو المهبط (Cathods) (لذا فمن الممكن تجزئة البروتينات بواسطة الرحلان الكهربائي . و يكون الرحلان الكهربائي للبروتينات المصلية أهمية طبية كبيرة , لأنها تسمح بتشخيص بعض الأمراض .



تحديد تركيب البروتين:

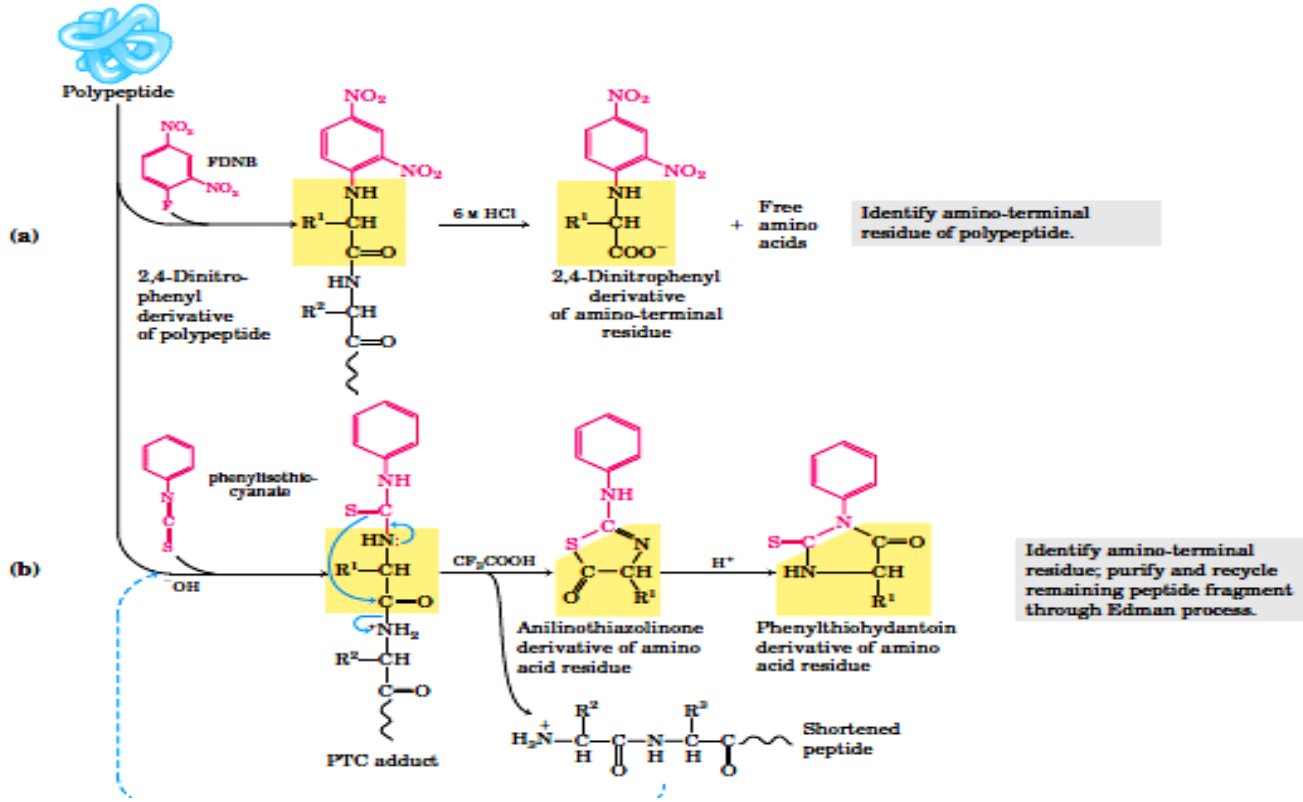
يقصد بتحديد تركيب البروتين أي معرفة التسلسل الحموض الأمينية الموجودة ضمن البروتين و شكل العمل الذي قام به العالم فريدريك سنجر عام 1953, عندما حدد تسلسل الحموض الأمينية للسلاسل المتعددة للأنسولين (أول بروتين عرفت بنيته التساهمية الكاملة) نقطة تحول في تاريخ الكيمياء الحيوية. لقد استخدمت عدة طرق من أجل تحديد الحمض الأميني N- الطرفي للبيتيد:

• طريقة ثنائي نثرو فينيل الحموض الأمينية لسنجر:

تتفاعل الوظائف α - الأمينية مع 2,4-ثنائي نثرو فلورالبنزن (كاشف سنجر) من أجل تشكيل مشتقات صفراء من 2,4- ثنائي نثرو فينيل -البيتيد عندما تخضع هذه المشتقات لحممة حمضية مع HCl (6M) تتحلل جميع الروابط البيبتيدية . إلا أن الرابطة بين الوظيفة 2,4- ثنائي نثرو فينيل و الوظيفة α -الأمينية للحمض الأميني للحمض الأميني N-الطرفي تكون ثابتة نسبيا إزاء الحممة الحمضية و بسهولة سيتم تعين الحمض الأميني الطرفي في السلسلة البيبتيدية. لقد حل محل طريقة سنجر طرق أخرى أكثر حساسية و أكثر فعالية .

• طريقة فينيل ثيو هيدانتوان لإدمان

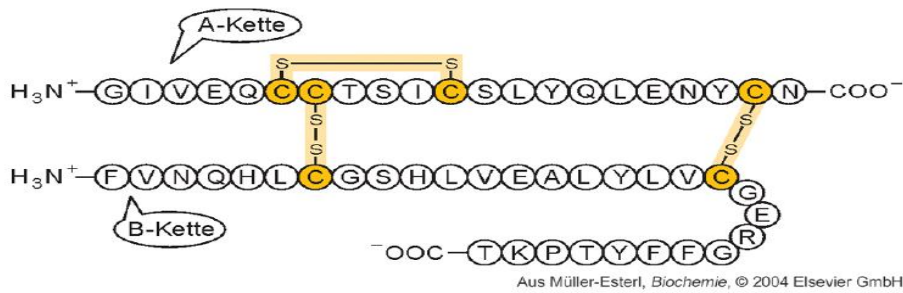
أنها الطريقة الأهم و الأكثر استعمالا من أجل تحديد الحمض N- الطرفي لبيتيد. في هذه الطريقة يتفاعل كاشف فينيل ايزوسيانات كميًا مع الوظيفة الأمينية الحرة لبيتيد من أجل إعطاء فينيل ثيو كارباموئيل الحمض الأميني . إن تأثير ثلاثي كلور حمض الخل يحرر الحمض الأميني الطرفي بشكل فينيل ثيو كارباموئيل الذي يترك بقية السلسلة , التي تبقى هي نفسها سليمة, و عندئذ يتحلل فينيل ثيو كارباموئيل الاحمض الأميني إلى مشتقه فينيل ثيو هيدانتون المطابق الذي يمكن فصله و تعيينه بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية - السائلة . و هكذا يمكن لجزيئة ثيو سيانات جديدة أن تتفاعل مع بقية السلسلة البيبتيدية بنفس الطريقة من طرف N - حمض أميني و في الوقت الحاضر تستعمل أجهزة تحديد المتتالية الأوتوماتيكية على نطاق واسع و تسمح بالتحديد الربيع جدا لمتتالية الحموض الأمينية إعتبارا من النهاية N- الطرفية. اذ تبين أيضاً أن البروتينات تتألف من مركبات عضوية أبسط و هي تتوزع على عشرين نوعا سميت بالحموض الأمينية.



5- البنى البروتينية Protein structures:

البنية الأولية Primary Structure

وهي البنية التركيبية الرئيسية في البروتين , تشكل تتالي الحموض الأمينية بتسلسل معين وحسب شيفرة وراثية لتقوم بتحديد هوية البروتين باعتمادها على الروابط الببتيدية و الجسور الكبريتية



إن فهم البنية الأولية للبروتين هام جداً لأن كثير من الأمراض الوراثية تؤدي إلى تشكيل بروتينات تحتوي على شذوذ في تسلسل حموضها الأمينية و بالتالي فقدان أو خلل في وظيفة البروتين الطبيعية و

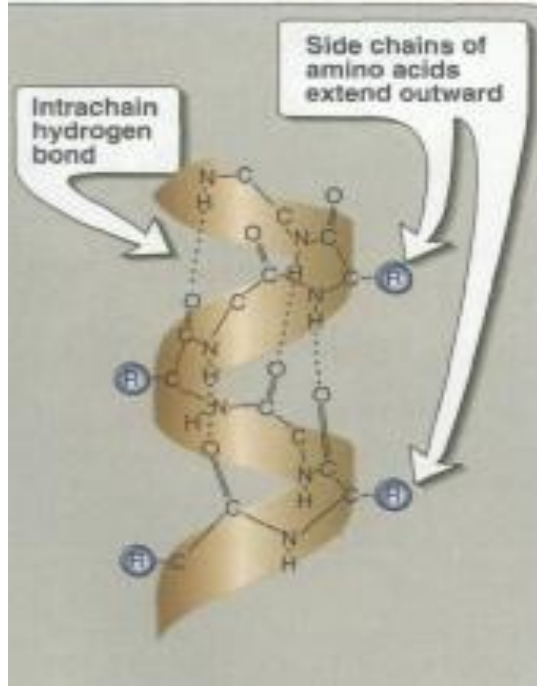
عند معرفة البنية الأولية للبروتينات الطبيعية و الطافرة يمكن لهذه المعلومات أن تفيد في دراسة المرض و تشخيصه.

البنية الثانوية Secondary Structure:

إن العمود الفقري لعديد الببتيد لا يتخذ شكل بنية عشوائية ثلاثية الأبعاد , بل يشكل تشكيلات منتظمة من الحموض الأمينية التي تتوضع قرب بعضها بشكل متسلسل خطياً , وبما أن الروابط الأحادية المحيطة بالرابطة الببتيدية تتميز بسهولة الدوران مما يمكن البروتين على الانطواء في الفراغ ليأخذ بنية ثلاثية الأبعاد. هذا الانطواء الناتج من ارتباط الحموض الأمينية القريبة من بعضها في البنية الأولية للبروتين يعبر عنها بالبنية الثانوية. وتتجلى في بنيتين وهما الحلزون α -helix و الوريقة المثناة β -sheet

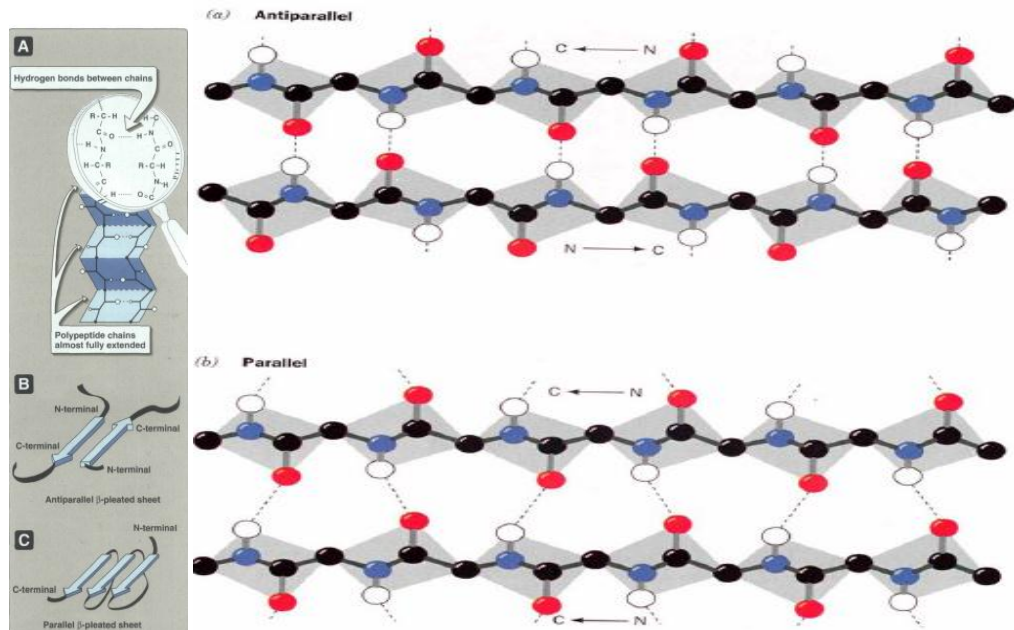
الحلزون ألفا: قام العالمان باولينغ و كوري بتصنيع عديد الببتيد و حل الببتيد بالماء المقطر ثم تبخير الماء بالتجميد و تحت ضغط منخفض للحصول على الببتيد و دراسته بالأشعة السينية فوجدا أن البنية هي على شكل حلزون و و دعيت ألفا لأن أول بنيته ثانوية قد أكتشفت. و بالتالي الحلزون ألفا شكله حلزوني و يكون اتجاه التفاف فيه يمكن أن يكون نحو اليمين (أي اتجاه عقارب الساعة) أو إلى اليسار غير أن الحلزون يميني الالتفاف هو المفضل طاقياً. يستقر الشكل الحلزون ألفا بواسطة الروابط الهيدروجينية بين الزمر : الزمرة الأمينية و الزمرة الكربونيلية المشكلة للرابطة الببتيدية بحيث يرتبط هيدروجين أزوت الزمرة الببتيدية للحمض الأميني الأول مع أوكسجين الكربونيل للزمرة الببتيدية للحمض الأميني الرابع. و تكون السلسلة الجانبية R للحموض الأمينية تتجه إلى خارج الحلزون مكسبة إياه خواص الكاره للماء. تحتوي كل لفة من الحلزون ألفا على 3.6 حمض أميني.

هناك حموض أمينية تشوه بنية الحلزون α مثل البرولين لأن المجموعة الأمينية فيه لا تتناسب هندسياً مع البنية الحلزونية للحلزون α - و لذلك فهو يشكل خلل أو إلتواء في السلسلة يؤثر على البنية الحلزون كما أن الكثير من الحموض الأمينية المشحونة (ومثالها الغلوتامات و الأسباراتات والهستيدين و الليزين و الأرجنين) تسبب تشوهاً في الحلزون نتيجة تشكيلها لروابط أيونية أو بسبب التناثر الكهربائي الساكن فيما بينها و أخيراً يمكن لبعض الحموض الأمينية ذات السلاسل الجانبية الضخمة مثل التريبتوفان و الفالين و إيزولوسين



الوريقة المثناة (β -sheet) :

وهي شكل آخر من البنية الثانوية للبروتين تتكون الوريقة المثناة (وتدعى أيضا الصفیحة بیئا المطوية) من اتحاد سلسلتین ببیتیدینین أو أكثر متوازية بواسطة روابط هیدروجینیة و تكون الروابط الهیدروجینیة متعامدة مع العمود الفقري الهیکلي لعديد الببتید. عندما تكون هذه السلاسل باتجاه واحد فیتشکل لدينا الصفیحة بیئا المتوازية Parallel β Sheet, أما إذا كانت هذه السلاسل باتجاهین متعاکسین فیتشکل حينها ما یسمى الصفیحة بیئا المتعاکسة أو الغير متوازية Antiparallel β Sheet



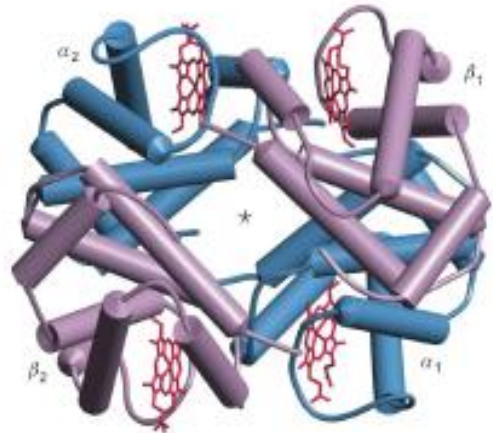
البنية الثالثية Tertairy Structure

وهي الشكل الهندسي أو التوضع الفراغي للسلاسل الببتيدية للبروتين وتعتمد على الروابط الكبريتية, الروابط الهيدروجينية, تداخلات الكارهة للماء, قوى فاندر فالس, تداخلات الكهربية الساكنة هذه العوامل التي تساعد في تشكيل البنية الثالثية للبروتين تحدها زمر السلاسل الجانبية للحموض الأمينية الداخلة في تركيب البروتين.



البنية الرابعة :Quaternary structure

تتكون معظم البروتينات من سلسلة واحدة من عديد الببتيد و تعرف بكونها بروتينات وحيدة القطعة monomeric إلا أن بعض البروتينات الأخرى قد تتكون من أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة وتدعى كل سلسلة ببتيدية في هذا النوع من البروتينات بتحت الوحدة أو القسيمة بروتينية Subunit. و تتجمع تحت الوحدات مع بعضها البعض عن طريق تفاعلات غير تكافؤية (الروابط الهيدروجينية , التجاذب الأيوني , التفاعلات الكارهة للماء) فمثلا نلاحظ في بنية البروتين الهيموغلوبين انه مؤلف من أربع وحدات (4 Subunit) , اثنين من هذه الوحدات تكون متناظرتان يطلق عليهما بوحدتي ألفا أما الوحدتين الأخرتين فتدعيان بالوحدتين بيتا.



Aut Müller-Eberhard, Biochemie, © 2004 Elsevier GmbH

4- تميخ البروتينات:

يمكن للقوى الضعيفة نسبياً، المسؤولة عن تماسك كل من البنية الثانوية و الثالثية و الرابعة أن تتخرب بسهولة عن طريق تأثير عدد من المعالجات، مما يؤدي إلى فقدان الفعالية الحيوية. لذلك تعرف هذه العملية بتمسيخ الهيئة الفراغية لبروتين أو تميخ البروتينات. تتلخص عملية تميخ الجزيء البروتيني من الناحية الفيزيائية، بتغير في الهيئة الفراغية للسلسلة عديدة الببتيد وبدون أي تغير في البنية الأولية لهذا البروتين.

وتحدث عملية التميخ بشروط معينة:

- الحرارة المرتفعة: فهي تؤدي إلى فك الروابط الهيدروجينية بسبب الطاقة الإهتزازية العالية التي تؤمنها.
- الأشعة فوق البنفسجية لها تأثير مشابه للحرارة
- الحركة الميكانيكية مثل الخفق أو التحريك السريع للمحلول البروتيني يؤدي إلى كسر الروابط الهيدروجينية.
- استخدام مركبات كيميائية و نذكر على سبيل المثال:

البولة و كلوريد الغوانيديين اللذان يساهمان في فك الروابط الغير تشاركية مثال تؤدي البولة إلى ترسيب البروتينات المنحلة و ذلك بتنافسها على تشكيل الروابط الهيدروجينية.

بيتا ميركابتو إيثانول الذي يساهم في إرجاع السستين إلى السيستئين أي فك الجسور الكبريتية.

بعض المحلات العضوية مثل الإيثانول و الأسيتون تساهم في فك الروابط التشاركية و الكهربائية الساكنة، حيث تعدل الزمر المشحونة و تؤدي إلى ترسيب البروتين.

- **الحموض و الأسس** التي تغير في ال PH الوسط للمحلول البروتيني حتى الوصول إلى نقطة التعادل الكهربائي وذلك يؤدي إلى فك الروابط بين الزمر المتشردة و تغير بنية البروتين وهذا يؤدي إلى ترسيبه.

قد يحدث التسخين بشكل عكوس أي تعود بنية البروتين إلى طبيعتها ضمن شروط مناسبة أو يكون التسخين غير عكوس ((تحدث الحرارة الشديدة تغيرا غير قابل للعكس مثال مسخ بياض البيض))

5- بنية ووظيفة بروتين:

سوف نتعرض في هذه الفقرة الدراسة العلاقة المتبادلة ما بين الوظيفة و البنية للجزيئات البروتينية في حالتها السوية (أو في حالتها الشاذة) و نبين كيف أن هذه العلاقة هي الأساس في تحقيق الوظائف الحيوية الخاصة بالجزيئات البروتينية. يمكن تصنيف البروتينات حسب الشكل العام إلى:

❖ بروتينات ليفية:

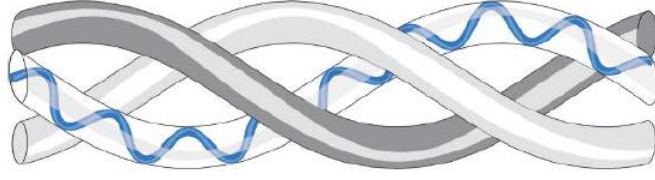
هي بروتينات تحوي جزيئات طويلة حتى أنها في بعض الحالات تشكل ليفا وتلعب دورا هاما في الوظائف التركيبية للجسم فهي تتواجد في الجلد, الأنسجة الرابطة, جدران الأوعية الدموية , القرنية,.... و تقدم مزايا ميكانيكية خاصة ناتجة عن تركيبها الاستثنائي الناتج عن اتحاد حموض أمينية محددة و منتظمة و تقسم هذه البروتينات إلى بروتينات تنحل في المحاليل القلوية المشبعة و بروتينات لا تنحل.

الكولاجين:

هو أكثر البروتينات توافرا عند الثدييات, يوجد في جميع الأعضاء خاصة الجلد , الغضروف, رباط العظم, أوتار العضلات, محيط الأوعية , العظم و الأسنان. حيث تم التعرف على أكثر من 19 نمط من الكولاجين في النسيج الثدييات و التي تتكون من حوالي 30 سلسلة ببتيدية متميزة يقابلها في الذخيرة الوراثية العدد ذاته من الجينات الوراثية الرامزة للكولاجين و وجوده في الأنسجة يعطيه دور هام في تحديد الخصائص الفيزيائية لتلك الأنسجة . نوع الكولاجين و طبيعته دوراً في خصوصية العضو الموجود فيه فيمكن أن يكون منتشر أو مبعثراً على شكل هلام في الخلط الزجاجي للعين, و على شكل حزمة متراسة كما في الأوتار و الأربطة النسيجية, بينما على شكل ألياف متعامدة في العظام لتكسبها المقاومة الضرورية. الكولاجين بروتين غير منحل, يتألف من ثلاث سلاسل ببتيدية من نوع (α -Chains) بحيث تكون ملتفة على شكل حبل ثلاثي الحلزون (Triplehelix).

Amino acid sequence - Gly - X - Y - Gly - X - Y - Gly - X - Y -

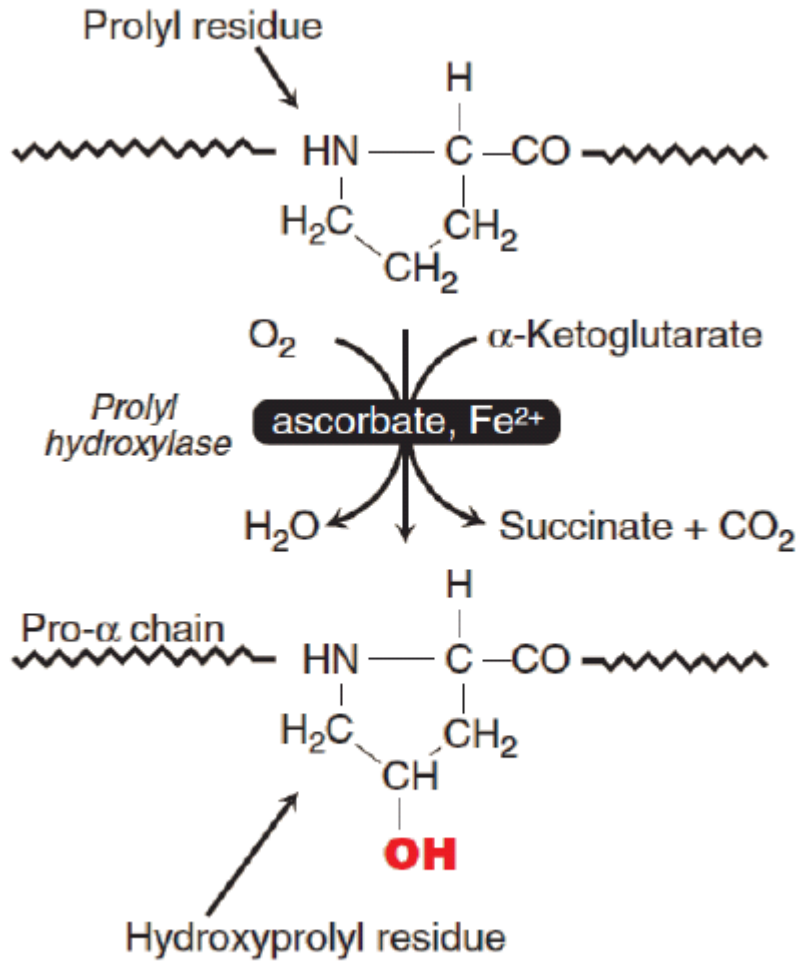
2° structure 



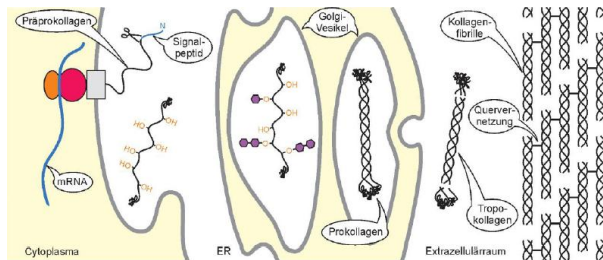
الشكل 2: شكل حبل ثلاثي حلزوني للكولاجين

إن الكولاجين غني بالحمضين الأمينيين (Gly) و (Pro) وهما مهمان لتكوين الحلزون الثلاثي الخيطي (α - Chains) الأول كونه أصغر حمض أميني، و الثاني تركيبه الحلقي). و يكون تركيب السلاسل الببتيدية (α - Chains) عبارة عن ببتيدات ثلاثية متعاقبة من الشكل (Gly-X-Y) حيث: X هي غالبا ما تكون (Pro) , Y هي غالبا ما تكون (Hyp) هيدروكسي بربولين أو (Hyl) هيدروكسي ليزين وبالتالي يمثل تعاقب الببتيدات الثلاثية المتعددة للكولاجين بالشكل (Gly-X-Y)₃₃₃ لأنه يتألف من 333 ثلاثية أي يتألف من 1000 حمض أميني. يتم اصطناع الكولاجين وفق الآلية العامة للاصطناع البروتيني. لكن الطور الأخير معقد بشكل خاص يتم الاصطناع وفق المراحل التالية:

- ✓ اصطناع مولد الكولاجين Preprocollagene: هو سلسلة بولي ببتيد مجردة من الهيدروكسي بربولين و الهيدروكسي ليزين والسكر و أكثر طولاً من سلسلة الكولاجين.
- ✓ شطر الببتيد الإشعاعي
- ✓ إضافة زمرة الهيدروكسيل على هذا البروتين في القسم الحاوي على جزيئات البرولين و الليزين و بوجود إنزيم مناسب (prolylhydroxylase) أو lysylhydroxylase الذي يتفعل بوجود فيتامين س Ascorbate و إن هذه التفاعلات تتطلب أيضا ايونات الحديد و ألفا- كيتو غلوتارات و وجود أوكسجين جزيئي. و بنقص الأوكسجين أو فيتامين س يؤدي إلى توقف عمل الأنزيم مما يؤدي إلى ضعف في بنية ألياف الكولاجين و أحد النتائج المرضية لهذا النقص هو مرض الاسقربوط ((Scurry)) و غالبا يظهر عند المرضى الذي لديهم نقص فيتامين س كدمات و رضات على أطرافهم بسبب تكسر الشعيرات الدموية.

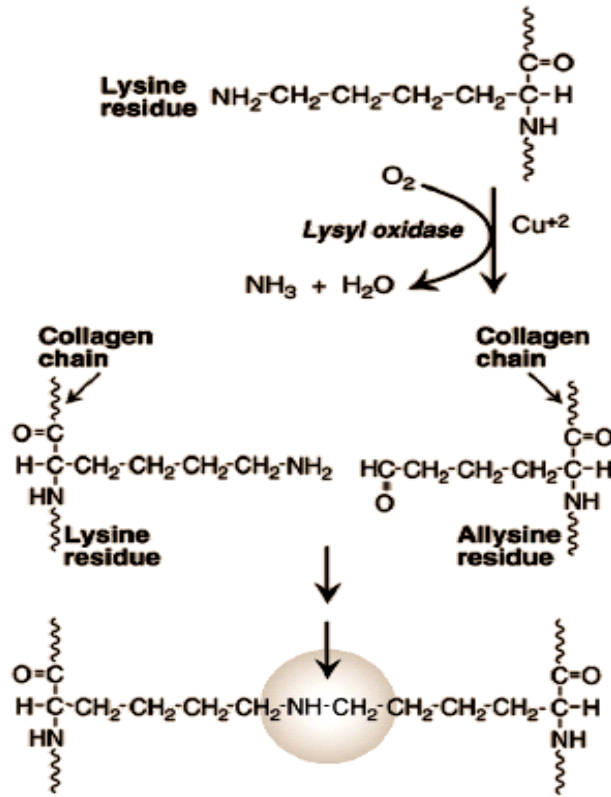


- ✓ تنظيم بعض الجزيئات كالسكر و الغلوتاميك مع جزيئات الهيدروكسي ليزين يتم هذا في جهاز غولجي
- ✓ تشكيل بنية هليكس الثلاثية و إفراز بواسطة جهاز غولجي مولد الكولاجين
- ✓ قطع النهايات في السلاسل بواسطة إنزيم خاص يدعى أمينو بروتيياز حيث يتم حذف 200 حمض أميني من الطرف N التي تحوي ببتييد المعلم (المؤشر) و بواسطة إنزيم كربوكسي بروتيياز 300 حمض أميني من الطرف C و نحصل أخيراً على الكولاجين
- ✓ تتشكل الألياف بتشارك جزيئات الكولاجين حيث تشكل الجسور المشتركة بين السلاسل و الجزيئات المجاورة



مراحل اصطناع الكولاجين:

✓ تشكل الروابط العرضانية: إن بعض أنماط الكولاجين لا تشكل أليافاً ذات شرائط عرضانية في النسيج و لكن كما ذكرنا أن بعض الأنماط تشكل ألياف الكولاجين عن طريق تشكل الروابط العرضانية المسؤولة عن تثبيت الألياف حيث ترتبط سلاسل الكولاجين بروابط تكافؤية بين الحموض الأمينية المجاورة في الفراغ. من بين هذه الروابط المعروفة جيداً تلك المتشكلة من جزيئين من الليزين. حيث في البداية يتشكل زمرة الأدهيدية على السلسلة الجانبية لليزين بدلا من أمينية و ذلك بواسطة إنزيم Lysyl oxidase و بوجود أيونات النحاس و الأوكسجين الجزيئي ثم التفاعل الزمرة أدهيدية و الزمرة أمينية في السلسلة الجانبية لليزين في السلسلة الكولاجين الثانية و بعد عدد من تفاعلات تتشكل الرابطة بين السلسلتين, لم يتم ذكرها الآن- تتشكل الرابطة التكافؤية HN-CH



أمراض الكولاجين:

أي خلل يحدث في إحدى خطوات تصنيع ألياف الكولاجين الذي يمكن أن يكون ناتج عن أمراض وراثية. يؤدي إلى عدم تكوين ألياف كولاجينية مناسبة كما في حالتين المرضيتين التاليتين:

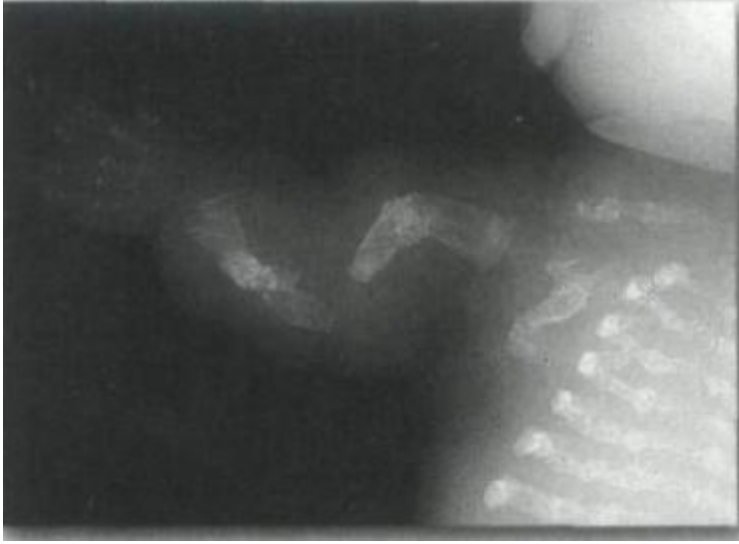
1- متلازمة Ehlers-Danlos-Syndrome (EDS):

وهي عبارة عن اضطراب و خلل في الأنسجة الرابطة و التي تنتج عن خطأ وراثي أثناء خطوات تصنيع جزيئات الألياف الكولاجينية. ويمكن أن يكون سبب ال EDS هو نقص في إنزيمات مراحل تشكيل الكولاجين مثال: Lysylhydroxylase deficiency أو Collagenpeptidase deficiency أو طفرات في تسلسل الحموض الأمينية لأنواع كولاجين I, III, V . الكولاجين من النوع III يؤدي الخلل إلى تكسر الشعيرات الدموية وخروج الدم خارج الأوعية وتحت الجلد. وقد لوحظ عند مرضى ال EDS وجود خلل في ألياف الكولاجين نوع I وهذا يؤدي إلى تمدد واضح في الجلد و ارتخاء في المفاصل الشكل



2- تكون العظم الناقص: ويعرف هذا المرض بضعف ببنية العظام نتيجة خطأ وراثي بحيث تتميز بسهولة انحنائها و كسرها و المظهر الشائع للمرض هو دوران و غلتواء العمود الفقري و ظهور حذب الظهر و هو على نوعين:

- Typ I (OI) وهو يعرف ببطء تكون العظم الناقص حيث يظهر هذا المرض في فترات الرضاعة المبكرة الشكل (5)
- Typ II (OI) وهو أكثر ألم و يمكن أن تكون الوفاة في الرحم أو خلال الشهر الأول من الولادة نتيجة وجود قصور في النسيج الرئوي أو في تكوين الرئة.



تشكيل الروابط ثنائية الكبريت في جزيء الكولاجين:

يشكل الببتيد الامتدادي في النهاية الأمينية لطليعة الكولاجين روابط ثنائية الكبريت بين زمر السلفاهيدريل المتقابلة بين ثمالات السلسلة الواحدة بينما نلاحظ أن الببتيد الامتدادي في النهاية الكربوكسيلية لطليعة الكولاجين فيشكل روابط ثنائية الكبريت المتقابلة بين ثمالات في السلسلة الواحدة و ثمالات لحموض في سلاسل أخرى . تلعب الروابط الثنائية الكبريت للبتيدات الامتدادية دورا في تشكيل البنية الفراغية لجزيء الكولاجين فهي تؤمن ارتباط الحلزون ألفا مع بعضها سواء عند الطرف الأميني أو الطرف الكربوكسيلي و تقوم بحماية بنية الكولاجين.

الايلاستين Elastin:

هو أحد البروتينات النسيج الضام المسؤولة عن السحوبية و الارتداد المرن في الأنسجة. و مع أنه غير موجود على نطاق واسع كالكولاجين لكنه يوجد بكميات كبيرة ولا سيما في الأنسجة التي تتطلب منها هذه الخصائص الفيزيائية كالرئتين و الأوعية الدموية الكبيرة و بعض الأربطة المرنة. كما توجد مقادير أبسط منه في الجلد و غضروف الأذن و عدة أنسجة أخرى. يصطنع الايلاستين بدء من طليعة الإيلاستين (تدعى أيضاً التروبوايلاستين Tropoelastin) وهي ذوابه بوزن 70 ك. دالتون ثم يحدث التعديل ما بعد الترجمة حيث يضاف الهيدروكسيل إلى بعض ثمالات البروليل في التروبوايلاستين لتشكيل هيدروكسي بروليل بتوسط إنزيم بروليل هيدروكسيلاز و بخلاف الكولاجين, لا يحتوي الإيلاستين على هيدروكسي الليسيل أو هيسدروكسي ليسيل المرتبط بالغليكوزيل و لا تحوي طليعة الإيلاستين بشكل طبيعي على ببتيدات امتدادية. بعد إفرازه من الخلية تتشكل الرابطة الديسموزية و تشكيل الايلاستين غير الذواب .

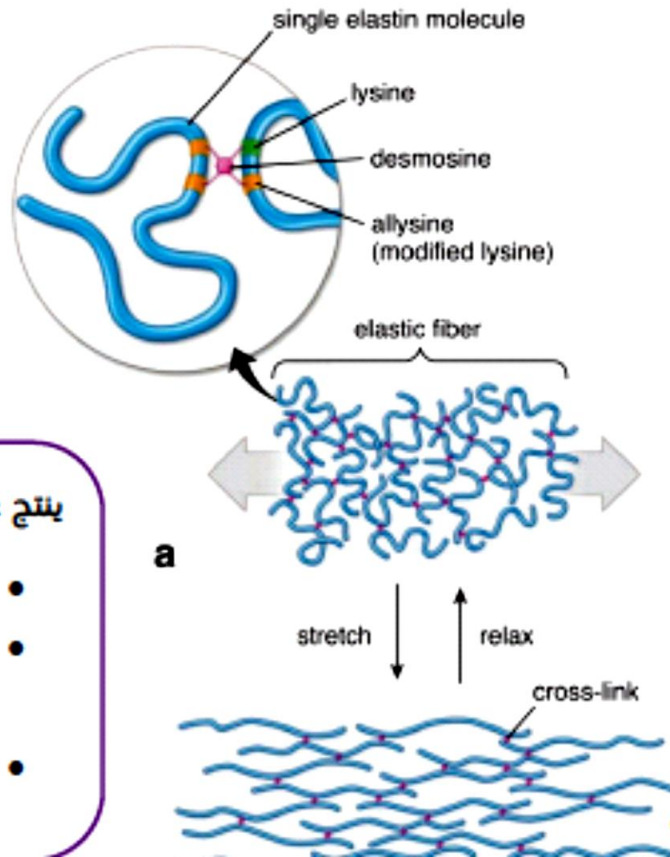
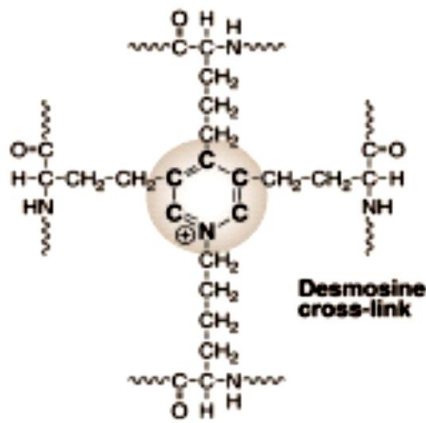
• تشكيل الرابطة الديسموزية:

يجري نزع الأمين لبعض ثمالات الليسيل تأكسدياً لتشكيل الألدريد بتواسط الليسيل أوكسيدياز – كما في الكولاجين - تتكاتف ثلاث ثمالات من الليزيل المعدل في السلسلة الجانبية (زمرة ألدهيدية بدلا من زمرة أمينية) مع الليزيل غير معدل لتشكيل رابطة تصالبيه رباعية خاصة بالايلاستين تدعى الرابطة الديسموزين

التي يبدي الايلاستين ضروبا مختلفة من الهياآت الوشيعية العشوائية التي تسمح للبروتين بالتمدد وثم الارتداد خلال قيامه بوظائفه الفيزيولوجية.

• حالات مرضية :

- متلازمة ويليام سببه حذف جزء من الجبين السابع في نحو 90% من المصابين و هو اضطراب نادر يصيب الأجهزة المسؤولة عن نمو العصبي و يتميز بتغيرات في شكل الوجه (أي اضطراب تطوري يصيب النسيج الضام و الجملة العصبية المركزية).
- تصلب الجلد ينتج عن تراكم الايلاستين في الجلد
- تهدل الجلد و تشيخ الجلد ينتج عن نقص كلا من الإيلاستين و الكولاجين
- النفاخ الرئوي Emphysema نقص الإيلاستين.



ينتج عن تشكيل أربطة الديسموزين ما يلي:

- تحول الإيلاستين إلى الشكل الناضج.
- يصبح الإيلاستين غير منحل (غير ذواب في الماء).
- يكتسب الإيلاستين الاستقرار الكبير.

النفاخ الرئوي Emphysema: تتكون الرئة بشكل أساسي من الإيلاستين التي يعطيها خاصية التمدد إلة عدة أمثال و الانحناء بأي اتجاه معطية مرنة فائقة للنسيج الرابطة و عودتها إلى شكلها الأصلي ثانية , و بشكل طبيعي يفرز الجسم الايلاستاز الذي يعمل على تفكيك الايلاستين.

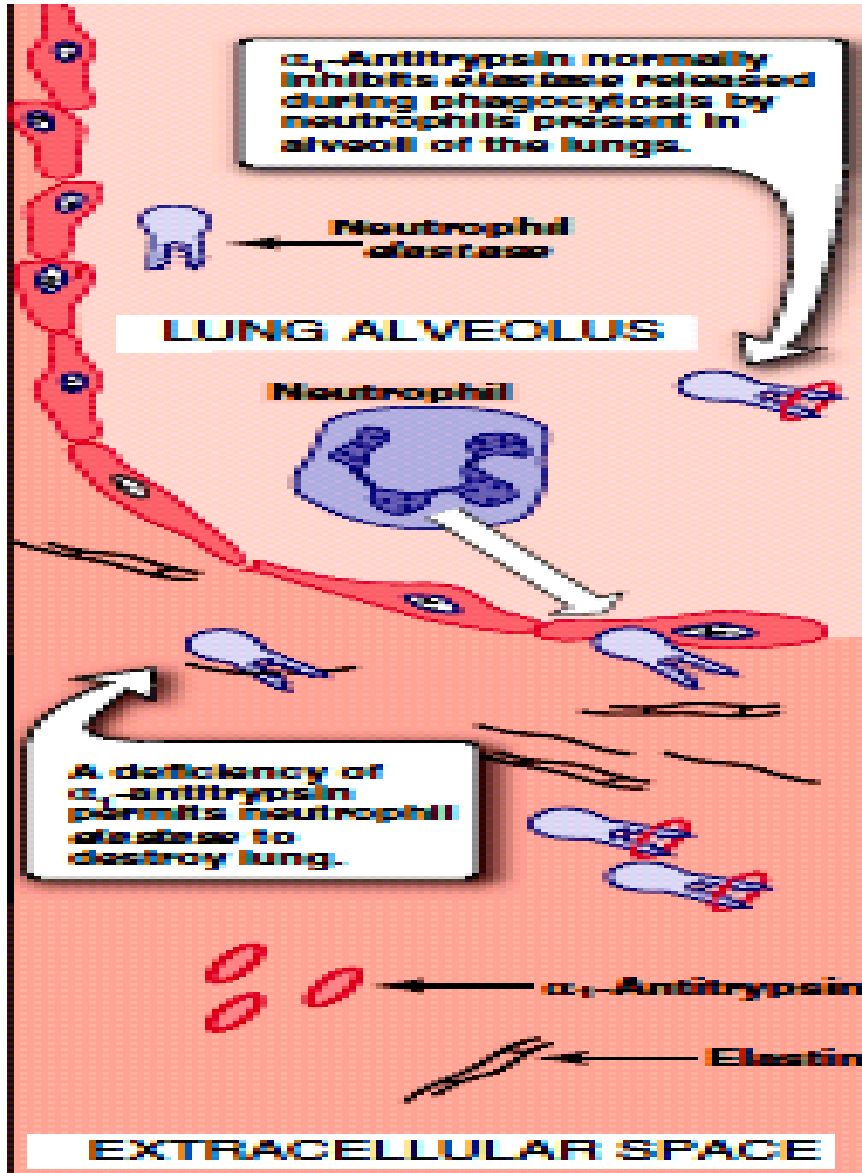
دور ال $\alpha 1$ -Antitrypsin في تخريب الايلاستين

إن $\alpha 1$ -Antitrypsin هو بروتين نوعي يوجد في الدم و سوائل أخرى في الجسم الذي يوقف عمل عديد من الإنزيمات الحالة للبروتين. يمكن لنشاط التحلل البروتيني للإيلاستاز أن يحطم الإيلاستين الموجود في جدران الحويصلات الرئوية في حال تحاشيها الفعل المثبط لل $\alpha 1$ -Antitrypsin و بما أن أنسجة الرئة لا تستطيع أن ترمم أو أن تجدد نفسها فإن النفاخ الرئوي تنتج عن تحطيم الانسجة الرابطة لجدران الحويصلات الرئوية.

في الحالة المرضية :

✚ نفاخ الرئوي الوراثي: في حال وجود خلل وراثي في انتاج ال $\alpha 1$ -Antitrypsin يحدث نقص في تركيبه و بالتالي يحدث تحلل و تحطم بروتينات أنسجة الحويصلات الرئوية .

✚ نفاخ رئوي مكتسب : يسببه التدخين بشكل أساسي فمادة النيكوتين الموجودة في الدخان ترتبط مع أحد الأحماض الأمينية (الميثيونين) في الموقع الفعال للإنزيم $\alpha 1$ -Antitrypsin و تعطل عمله.



الإنزيمات Enzymes

الإنزيمات هي جزيئات حيوية من طبيعة بروتينية باستثناء الريبوزيمات -تسرع التفاعلات الكيميائية في الكائنات الحية دون أن تغير من توازن التفاعلات التي تتوسط تسريعها ومن دون أن تستهلك إذ تعود إلى حالتها الأولى عندما تنجز التفاعل الكيميائي، تمتاز بنوعيتها العالية. تعمل الإنزيمات على تخفيض طاقة التنشيط المطلوبة وتزيد سرعة التفاعل إلى حوالي 10^{14} . تدعى المادة التي تؤثر فيها الأنزيم باسم الركيزة Substrate. الريبوزيمات: على الرغم من أنها ليست بروتينات , تبدي بعض الأحماض الريبية النووية (RNA) نشاطا محفزا نوعيا تجاه الركيزة. تدعى هذه الأحماض بالإنزيمات الريباسية (Ribonucleic acid enzyme) أو الريبوزيمات , و تنطبق عليها كافة المعايير التقليدية المستخدمة في تعريف الإنزيمات و تكون الركائز التي تعمل عليها خذ 1ه الإنزيمات مقتصرة على روابط فوسفوايسترية في الرنا RNA.

1. خصائص الإنزيمات:

A. تتمتع بقدرة تحفيزية عالية High catalytic efficiency: للإنزيمات بيولوجية قوة تحفيزية فوق عادية , و غالبا ما تكون قوتها التحفيزية أكبر بكثير من المحفزات غير البيولوجية. إذ انها تزيد من القدرة التحفيزية من 103 إلى 1017 مقرنة بحال عدم استخدام الإنزيمات

B. الإنزيمات تتمتع بنوعية عالية specificity:

هي قدرة الإنزيم على اختيار ركيزة محددة , و تكوت آلية التمييز هذه على المستوي الجزيئي

- نوعية ضعيفة (الرابطة) : يتطلب فيها عمل الإنزيم أن تكون الرابطة فقط من نوع محدد و بالتالي يستطيع الإنزيم أن يعمل على عدد كبير من الركائز لكنه يقوم بالفعل الأنزيمي ذاته

مثال: يقوم الإنزيم الببتيداز الثنائية Dipeptidase بتحفيز حلمهة الرابطة الببتيدية بين أي حمضين أميين المشكلين للرابطة الببتيدية في ثنائي ببتيد, فهو نوعي للرابطة بينهما و لكن ليس نوعي لنوع الحمض الأميني .

مثال آخر: هكسوكيناز هو إنزيم يقوم بفسفرة سكريات السداسية (غلوكوز , فركتوز , غالاكتوز...)

- نوعية المجموعة Group Specificity: تعد تلك الإنزيمات أكثر نوعية من المجموعة السابقة و عدد ركائزها أقل و يتطلب عمل الإنزيم وجود مجموعة وظيفية محددة.

مثال: إنزيم التربسين نوعي للروابط الببتيدية التي تشمل المجموعة الكربوكسيلية لأحد الحموض الأمينية القاعدية (ليزين , الأرجنين , هيسنتين) و ليس نوعيا للحموض الأمينية الأخرى.

- نوعية مطلقة (نوعية الركازة) Absolute (Substrate) Specificity: تلك الإنزيمات تعمل على ركيزة محددة دون غيرها و من الأمثلة على ذلك:
 - إنزيم الأرجيناز يحفز حلمة فقط الأرجينين
 - إنزيم اللاكتاز يحفز فقط حلمة اللاكتوز
 - إنزيم السكراز يحفز فقط السكروز
 - الغلوكوكيناز يفسر فقط جزيئة الغلوكوز

• نوعية كيميائية فراغية Stereo chemical (Optical) Specificity

إذا كانت للركيزة مصاوغات فراغية فغن الإنزيم يعمل على واحد منها فقط، وهذه الإنزيمات تتمتع بنوعية عالية جداً.

مثال: إنزيم الفوماراز Fumarase: هو من إنزيمات حلقة كريبس يعمل على ركيزته و هي حمض الفوماريك (فومارات) Fumaric acid و ليس على مصاوغه (مماكبه) المقرون , حمض المالك Maleic acid.

مثال آخر: إنزيم ألفا - غليكوزيداز (α -amylase): يحلمه فقط الرابطة الغليكوزيدية ألفا في النشاء و الغليكوجين و لا يؤثر على السيللوز (لان الروابط فيه من الشكل بيتا- غليكوزيد)

2. أنواع الإنزيمات وبنيتها الكيميائية:

الإنزيمات عبارة عن بروتينات كروية تتألف من عدد من الحموض الامينية يتراوح بين 2500 - 62 تتعلق فعاليات الإنزيمات بالبنية ثلاثية الأبعاد. وتقسم الأنزيمات إلى نوعين وفقاً لتركيبها:

(1) **إنزيمات بسيطة:** عبارة عن بروتينات مؤلفة فقط من حموض أمينية كأنزيمات الحلمة والتربيين و اليوراز و الريبونيكلياز و الببسين....

(2) **إنزيمات معقدة** (بروتينيدات) وهي ذات بنية مركبة، تتألف من جزء بروتيني يدعى الصميم Apo

enzyme مرتبطاً بالعامل المساعد Coenzyme بزمر ضميمية قد تكون عضوية أو لا عضوية مثل أيون معدني كما في الجدول يوضح الأيونات الموجودة في بعض الإنزيمات أو بالتميممركب عضوي

، حيث أن بعض هذه التمايم تشتق من فيتامينات Vit B

يؤدي ارتباط الصميم بالعامل المساعد على تركيب الشكل الفعال للإنزيم ويدعى العميم

.Haloenzyme

TABLE 6-1

Some Inorganic Ions That Serve as Cofactors for Enzymes

| Ions | Enzymes |
|--------------------------------------|--|
| Cu^{2+} | Cytochrome oxidase |
| Fe^{2+} or Fe^{3+} | Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase |
| K^+ | Pyruvate kinase |
| Mg^{2+} | Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase |
| Mn^{2+} | Arginase, ribonucleotide reductase |
| Mo | Dinitrogenase |
| Ni^{2+} | Urease |
| Se | Glutathione peroxidase |
| Zn^{2+} | Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B |

➤ التمايم الإنزيمية: هي مركبات عضوية غير بروتينية، تشكل جزءاً من عموم الإنزيم، تقوم بتفعيل بعض الإنزيمات وترتبط مع الإنزيم برابطة غير تكافؤية سهلة التفكك والتشكل. تتمتع التمايم الإنزيمية بالخصائص التالية:

- وزنها الجزيئي منخفض
- مقاومة للحرارة
- تقوم التمايم الإنزيمية بزيادة قدرات التحفيزية للإنزيم أكثر مما تفعله المجموعات الوظيفية للأحماض الأمينية التي تشكل الإنزيم
- تحتاجه الإنزيمات التي تحفز نقل المجموعات وتفاعلات أخرى إضافة إلى الركيزة

ملاحظة:

✚ العامل المساعد Cofactor: يمكن ان يكون عبارة عن تميم إنزيم أو زمرة ضميمية أو عناصر معدنية

و يكون الهدف الرئيسي لها هو تحفيز التفاعل و تسريعه

الفرق بين الزمرة الضميمة و التميما الإنزيمي:

- الزمرة التميمية تكون الرابطة بين الغنزيمو التميم سهلة التشكل و التفكك
- الزمرة الضميمة : تكون الرابطة بين تلك الزمرة و الإنزيم قوية غير قابلة للفصل أو التفكك و لا تتحطم الرابطة إلا بتحطيم الجزيئة و هذا ما نجده في إنزيمات الأكسدة و الإرجاع السيتوكرومية.

3. تسمية الإنزيمات و تصنيفها:

يوجد تصنيفين لتسمية الإنزيمات:

1) التسمية القديمة: يشق اسم الإنزيم باسم الركيزة التي يعمل عليها مضافاً إليها النهاية أse, فأنزيم اليوراز Urase هو الذي يهاجم البولة Urea, إنزيم الليباز Lipase هو الذي يهاجم الليبيدات و السكراز Saccharase يعمل على السكروز هكذا...

2) التسمية الحديثة: نظرا لتزايد عدد الإنزيمات المكتشفة فقد وضعت أسس تصنيفية حديثة لتسمية الإنزيمات من قبل الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية وأعطى كل إنزيم اسماً مشتقاً من اسم المادة المتفاعلة (الركيزة) أولاً, ثم نوع التفاعل أو وظيفته ثانياً مزوداً بالنهاية أse . فالأنزيم غلوكوز-6- فوسفاتاز هو الذي يتفاعل مع المركب غلوكوز -6- فوسفات و الإنزيم لاكتاتديهيدروجيناز هو الإنزيم ينزع الهيدروجين من اللاكتات. و يمكن أن يسمى الإنزيم باسم فعله (وظيفته) فقط بدون اسم ركيزته فالإنزيم الأوكسيداز (Oxidase) تتوسط تفاعلات الأكسدة و الإرجاع و الإنزيمات التي تقوم بنزع الهيدروجين من الركيزة تدعى ديهيدروجيناز Dehydrogenase.

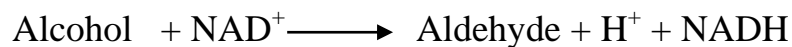
وأخيراً , علم بأن كثيراً من التسميات القديمة لم تنزل شائعة حتى الآن كاللعابين (Ptyalin) و الهضمين (Pepsin) و الايموليسين (Emulesin).

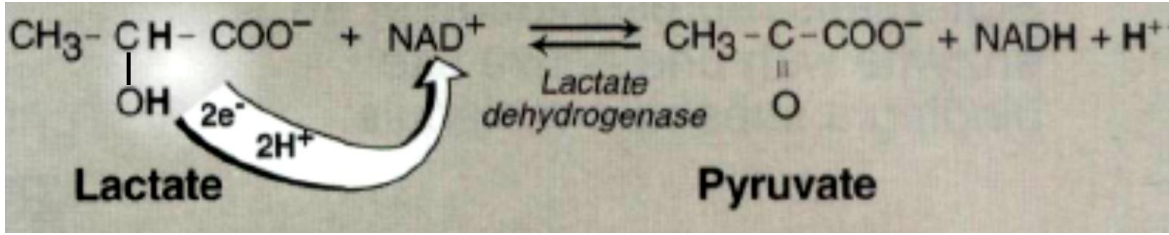
أما التسمية العلمية التفصيلية فهي التسمية التي اعتمدت من قبل الاتحاد العالمي للكيميائين الحيويين وتعتمد على تصنيف العالمي للإنزيمات حيث صنفت الإنزيمات في ستة مجموعات بناءً على التفاعلات الكيميائية الحيوية التي تحفزها وكل مجموعة رئيسية تحتوي أيضاً عدة فروع:

| Class | Reaction type | Important subclasses |
|---------------------------|--|---|
| 1 Oxidoreductases | <p>○ = Reduction equivalent</p> <p>A_{red} + B_{ox} ⇌ A_{ox} + B_{red}</p> | Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases |
| 2 Transferases | <p>A-B + C ⇌ A + B-C</p> | C-Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases |
| 3 Hydrolases | <p>A-B + H₂O ⇌ A-H + B-OH</p> | Esterases Glycosidases Peptidases Amidases |
| 4 Lyases ("synthases") | <p>A-B ⇌ A + B</p> | C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases |
| 5 Isomerases | <p>A ⇌ Iso-A</p> | Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases |
| 6 Ligases ("synthetases") | <p>A + B + XTP ⇌ A-B + XDP + P</p> <p>X = A, G, U, C</p> | C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases |

1- إنزيمات الأكسدة والإرجاع Oxidoreductases

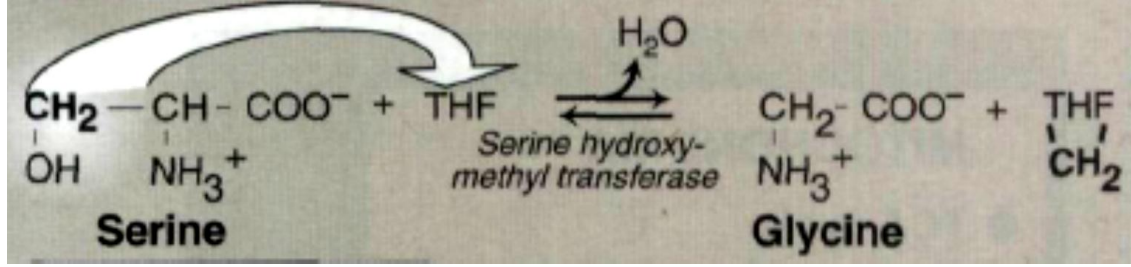
وهي التي تقوم بعملية الأكسدة والإرجاع بين ركيزتين وتلعب دورا بيولوجيا هاما في تفاعلات التمثيل الغذائي داخل أنسجة الكائن الحي للحصول على الطاقة. كمثال عنها Alcoholdehydrogenase الذي يتوسط التفاعل التالي:





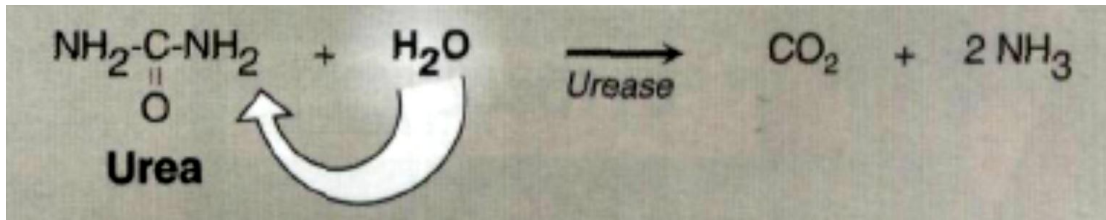
2- إنزيمات النقل Transferase

هي مجموعة إنزيمات التي تقوم بنقل الزمر الكيميائية الوظيفية من مركب لآخر.



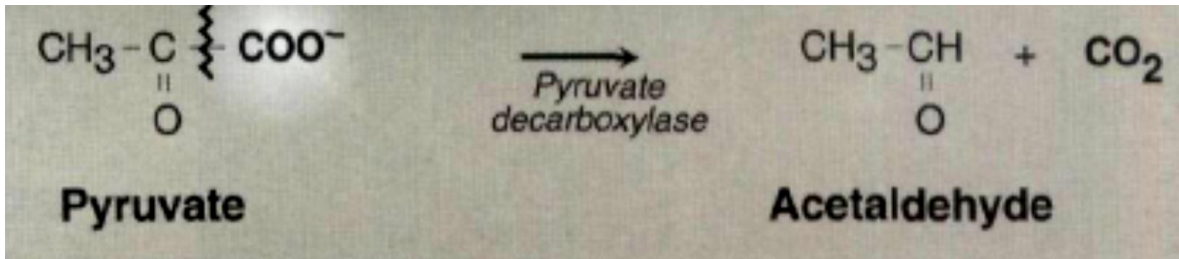
3- إنزيمات الحلمهة Hydrolases:

تتوسط تلك الإنزيمات تفاعلات حلمهة الروابط الاسترية, الروابط الببتيدية, الروابط الغليكوزيدية.



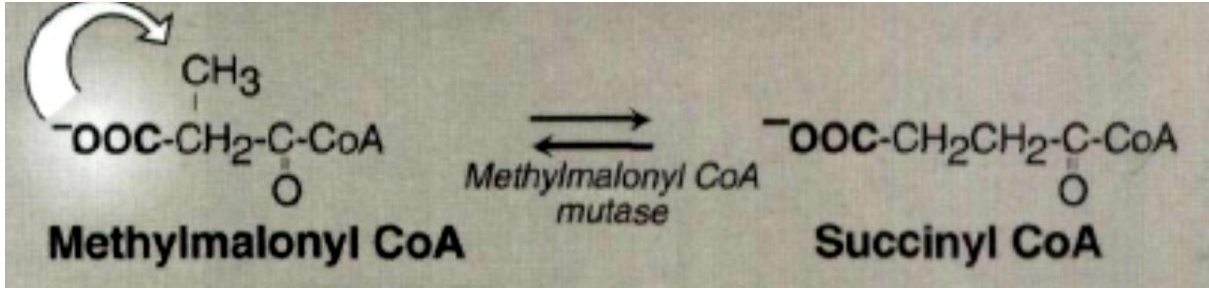
4- إنزيمات التفكك Lyases:

وهي أنزيمات تتوسط تفاعلات تفكيك الركيزة بعدم تدخل الماء أي نزع زمر كيميائية من الركازات. مثال تفاعلات نزع الكربوكسيل, إنزيمات المفككة للرابطة C-N, إنزيمات فصل الرابطة C-C



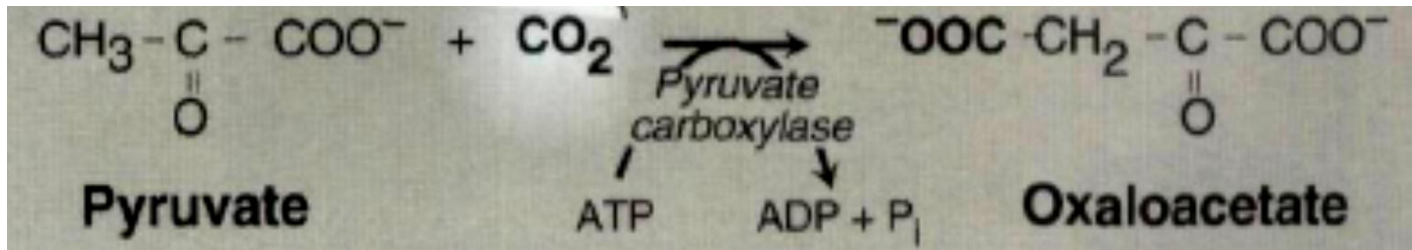
5- إنزيمات التماكب Isomerase

يمكن لهذه الإنزيمات تغيير المماكبات الضوئية أو الفراغية إلى مماثلاتها وينتمي إلى تلك المجموعة إنزيمات التماكب الراسمي و الإبيميري, إنزيمات التماكب المفروق و المقرون, إنزيمات التماكب الناقلة داخل الجزيئة الواحدة, إنزيمات الأكسدة و الإرجاع داخل الجزيئة الواحدة.



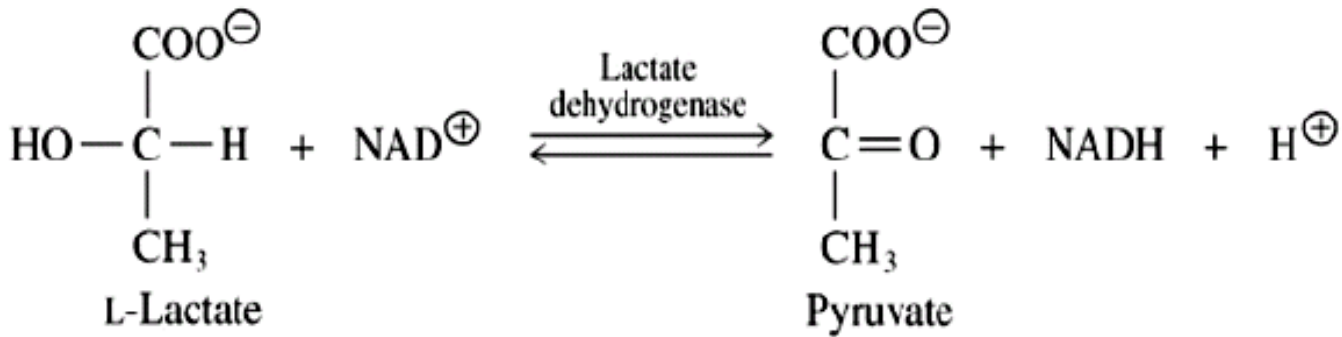
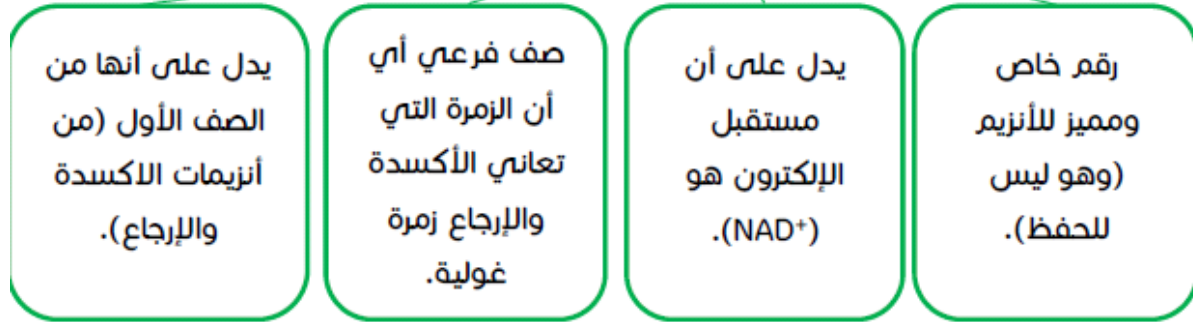
6- إنزيمات التركيب أو الاصطناع Ligases:

تواسط تلك الإنزيمات انضمام مركبين مترافقاً ذاك بتفكك رابطة فوسفورية في الـ ATP. تبعا لنوع الرابط المتشكل يمكن تصنيف هذه الإنزيمات إلى:
 إنزيمات تشكل الرابط C-C, أو C-N أو C-O



✓ مثال: إنزيم LDH ذو الشيفرة E.C.1.1.1.27

LDH E.C. 1 . 1 . 1 . 27



4. العوامل المؤثرة في نشاط الإنزيم

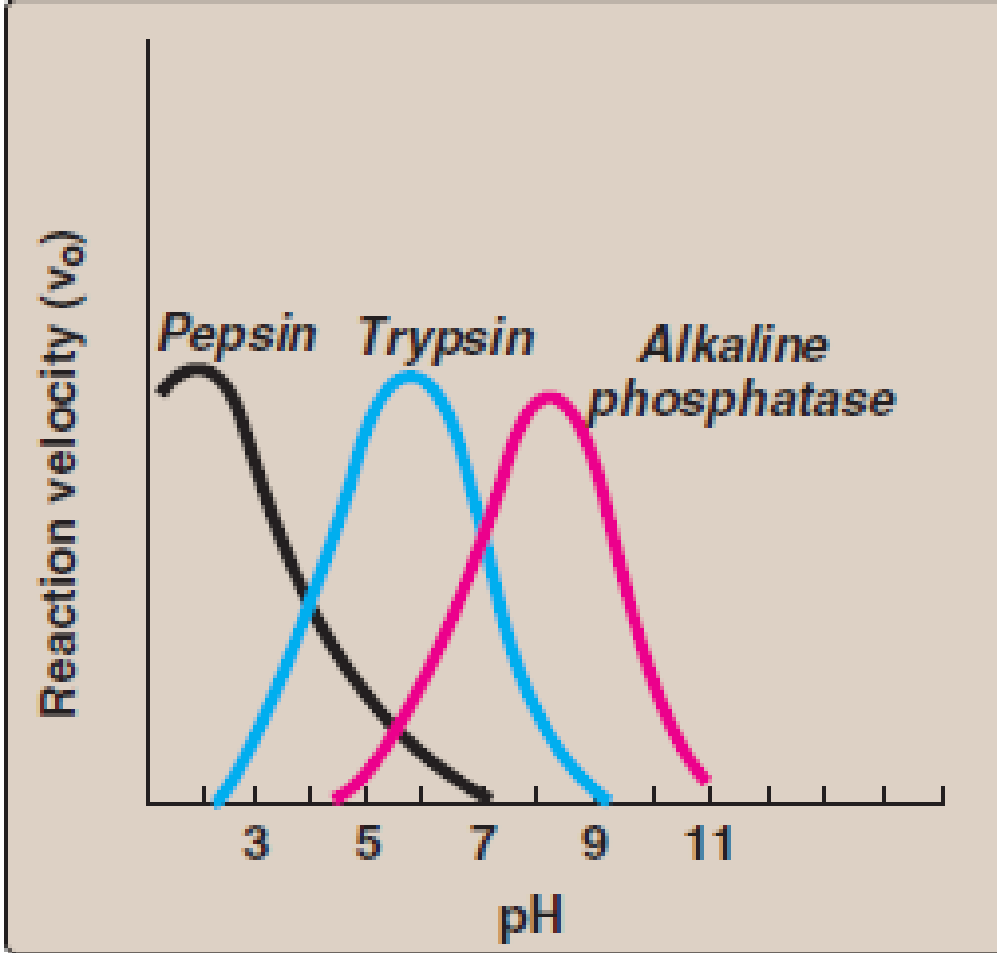
1- تأثير الحرارة

تزداد سرعة التفاعل الإنزيمي بازدياد درجة الحرارة حتى الوصول إلى الحرارة المثلى التي يبلغ عندها الإنزيم فاعليته القصوى فهي عند الإنسان (37- 40 °س), يؤدي ارتفاع درجة الحرارة إلى تناقص في سرعة التفاعل الإنزيمي بسبب حدوث التمسخ للإنزيم. تعمل بعض الإنزيمات بدرجات حرارة عالية كما هو الحال بالنسبة للإنزيمات الخاصة ببعض الجراثيم المتحملة للحرارة.

2- تأثير الأس الهيدروجيني

الإنزيمات حساسة جدا لتبدلات ال PH حيث يبدي تغير PH الوسط تأثيرا كبيرا على ألفة الإنزيم إلى الركيزة. وكل إنزيم تكون فاعليته العظمى في مجال محدد من ال PH يعرف بدرجة الحموضة المثلى. إن تغير في قيمة ال PH الوسط يؤدي إلى تغير الحالة الشاردية للإنزيم و الركازة وذلك يعود إلى احتواء الأنزيم على زمر لها خاصية التشرذ في المركز الفعال للإنزيم (حلقة إيميدازول للهستيدين, زمرة الهيدروكسيل للسيرين, زمرة الكربوكسيل, زمرة الثيول,...). تعمل

معظم الإنزيمات في درجة ال PH تتراوح بين 5-9 وهناك إنزيمات تعمل في وسط قلوي مثل إنزيم الفوسفاتاز القلوية الذي تكونه درجة ال PH المثلى 10.04بينما تكون درجة المثلى للبيسين تتراوح بين ال PH 1.5-1.6



| Enzyme | PH Optimum |
|----------------------|------------|
| Lipase (pancreas) | 8 |
| Lipase(Stomach) | 4 – 5 |
| Lipase (Castor oil) | 4,7 |
| Pepsin | 1,5 – 1,6 |

| | |
|--------------------|-----------|
| Trypsin | 7,8 – 8,7 |
| Urease | 7 |
| Maltase | 6,1 - 6,8 |
| Amylase (Pancreas) | 6,7 - 7 |
| Amylase (malt) | 4,6 - 5,2 |
| Catalase | 7 |

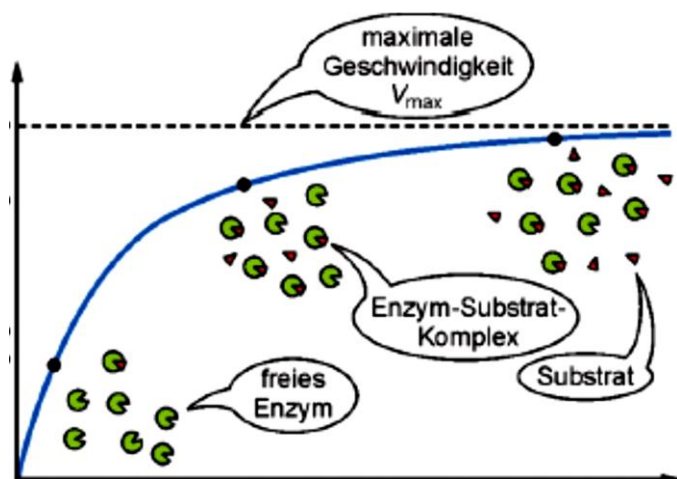
3- تأثير تركيز الإنزيم

تتناسب سرعة التفاعل الإنزيمي طردا مع تركيز الإنزيم في حدود معينة

4- تأثير تركيز الركيزة

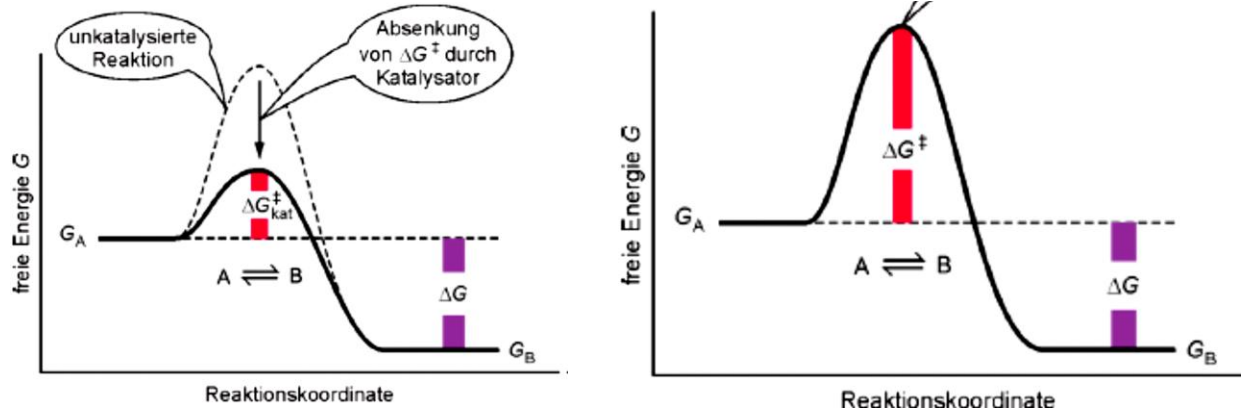
تزداد سرعة التفاعل الإنزيمي طردا مع تركيز الركيزة حتى الوصول إلى سرعة عظمى للتفاعل و

يسمى حد الإشباع، حيث تكون فيها كل أماكن ارتباط الإنزيم بالركيزة مشبعة



5-آلية عمل الإنزيمات:

خلال قيام التفاعلات الكيميائية تتفاعل المواد المتفاعلة لتشكيل الحالة الانتقالية والتي تحتاج للوصول إليها كمية من الطاقة تسمى بالطاقة الحرة للتنشيط أو للتفعيل. تعبر الحالة الانتقالية حاجزاً للطاقة فلكل تفاعل كيميائي حاجز طاقي لابد من تخطيه كي يتم التفاعل الكيميائي، لكي يحدث التفاعل يجب أن تملك الجزيئات المتصادمة الطاقة اللازمة لاجتياز الحاجز الطاقي. فأي عامل يؤدي إلى زيادة الطاقة الحركية للجزيئات المتفاعلة أو يخفض من الحاجز الطاقي المطلوب للتفاعل أو يزيد من حكة التصادم لابد أن يؤدي إلى زيادة سرعة التفاعل.



في التفاعلات المحفزة بالإنزيمات يتحد الأنزيم مع الركيزة لينشكّل معقداً (إنزيم-ركيزة) يحتاج إلى طاقة للوصول إلى الحالة الانتقالية طاقة تنشيط أقل بكثير مكن طاقة التنشيط المطلوبة لحدوث التفاعل في حال غياب الإنزيم. الذي لا يلبث أن يعطي في النهاية نواتج التفاعل ويعود الإنزيم حراً لتنشط من جديد.

من أجل جعل الصورة هذا التفاعل أوضح نشبه آلية عمل الإنزيمات بعمل المفتاح و القفل , النظرية التي وضعها العلم إميل فيشر, فكما أن أشكالاً معينة من المفاتيح تناسب أشكالاً خاصة من الأقفال كذلك فإن أنماطاً معينة من الخمائر تتوافق مع أنماط خاصة من الركائز فإذا اختلف في المفتاح سن أو تغير في القفل فجوة متناهية في الصغر فلا يمكن حينئذ تطبيق المفتاح في القفل كذلك الحال بالنسبة للإنزيم فإن اختلافاً متناهياً في الصغر في سطح الإنزيم أو الركيزة و أو كليهما معا يمنع حدوث تشكيل المعقد إنزيم-ركيزة إلا أن هذه النظرية أصبحت غير مقبولة وظهر العالم كوشلاند بنظريته الجديدة التي تقول بأن الإنزيم يعدل من شكله ليتوافق سطحه مع سطح الركيزة و ليتم اتحاد الإنزيم بالركيزة في المكان الصحيح. فلكل إنزيم مركز فعال هو الذي يرتبط مع الركيزة لتجري فيه عمليات التحفيز، ويتألف من جيب في البروتين تتوضع داخله زمر وظيفية وحموض أمينية بتتابع معين ومحدد (3-4 حمض أميني). فمثلاً مجموعة سيستئين- بروتيياز (ترييسن, كيموترييسين, الإستاز) تنتمي إلى إنزيمات البروتيياز Proteases, التي تشطر ركيزة بروتيينية واحدة إلى منتجات من عديدات الببتيد, تحوي على Ser, His, Asp في المركز الفعال.

فالمراكز الفعالة في الإنزيم هي التي تحدد نوعية التفاعل الذي تخضع له الركازة فمثلا عندما تخضع الركيزة غلوكوز -6- فوسفات لعدة إنزيمات مختلفة الاختصاص فإننا نحصل على نواتج مختلفة كما يبين الجدول التالي:

| نوع التفاعل | نتاج التفاعل | الإنزيم | الركيزة |
|--------------|--------------------------|------------------------------|-----------------|
| أسترة داخلية | غلوكوز-1-فوسفات | فوسفوغلوكوموتاز | غلوكوز-6-فوسفات |
| تماكب | فركتوز-6-فوسفات | غلوكوز-6-فوسفات إيزوميراز | |
| أكسدة | غلوكونيك لاكتون-6-فوسفات | غلوكوز-6-فوسفات ديهيدروجيناز | |

6. معادلة ميكائيليس منتن

في تفاعلات التحفيزية الإنزيمية يتحد الإنزيم E مع الركازة S بشكل عكوس ليشكل معقد إنزيم – ركازة [ES] الذي يتفكك بعدها إما إلى إنزيم و ناتج P أو إلى إنزيم و ركازة من جديد وفق المعادلات التالية:



حيث k_1, k_{-1}, k_2 : ثوابت السرعة لكل مرحلة من مراحل التفاعل.

إن سرعة التفاعل لتفكك معقد إنزيم -ركازة أبطأ من سرعة تفاعل الإنزيم بالركازة لتشكيل المعقد ES. بما أن التفاعلات المحفزة إنزيميا قابلة للإشباع فإن سرعة التحفيز بدلالة تركيز الركازة ليست خطية نلاحظ من الخط البياني أن سرعة التفاعل تزداد بازدياد تركيز الركازة إلى حد يصبح فيه الإنزيم مشبعا وعندها سرعة التفاعل أعظمية V_{max} التي يكون فيها الإنزيم موجودا بشكل كامل في المعقد ES و لا يحدث بعد ذلك ازدياد في سرعة التفاعل مهما ازداد تركيز الركازة.

أوجد الباحثان ميكائيليس و منتن العلاقة التي تربط تركيز الركيزة وسرعة التفاعل الإنزيمي (الفعالية الإنزيمية) والتي تعبر عنها بالمعادلة التالية:

$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

حيث V: السرعة الابتدائية للتفاعل, V_{max} : السرعة العظمى للتفاعل,

[S]: تركيز الركيزة, K_m : ثابت ميكائيليس-منتن

تعبّر K_m عن تركيز الركيزة التي تكون فيها سرعة التفاعل المحفز إنزيميا تعادل نصف السرعة العظمى للتفاعل.

بمعرفة كل من V_{max} و K_m يمكن حساب سرعة التفاعل الإنزيمي عند أي تركيز معين للركيزة. ولكل إنزيم قيمة K_m مميزة من أجل ركيزة معينة وتظهر هذه القيمة قوة ارتباط الركيزة إلى الإنزيم.

➤ مناقشة علاقة سرعة التفاعل الإنزيمي حسب ميكائيليس منتن:

1. عندما يكون تركيز الركيزة منخفض جدا مقارنة بثابتة ميكائيليس ($[S] \ll K_m$) فإن العلاقة وبإهمال $[S]$ في

$$V_0 = \left(\frac{V_{max}}{K_m} \right) [S] \quad \text{المقام لصغرها تؤول إلى :}$$

ولدينا $\frac{V_{max}}{K_m}$ ثابت، وبالتالي عند تركيز الركيزة المنخفض فإن سرعة التفاعل تزداد بشكل خطي عند زيادة $[S]$ (سرعة التفاعل تعتمد بشكل أساسي على تركيز الركيزة هنا)

2. عندما تكون $[S] = K_m$ فإن :

$$V_0 = V_{MAX} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

$$V_0 = V_{MAX} \frac{[S]}{[S] + [S]} = V_{MAX} \frac{[S]}{2[S]}$$
$$V_0 = \frac{1}{2} V_{MAX}$$

أي هنا سرعة التفاعل تساوي نصف سرعة التفاعل القصوى

3. عندما تكون $[S]$ كبيرة جدا مقارنة ب K_m ($[S] \gg K_m$) فإن العلاقة وبإهمال K_m لصغرها تؤول إلى $V_0 = V_{MAX}$ أي سرعة التفاعل الأنزيمي هي السرعة القصوى للتفاعل، وهذا ما يفسر أنه من أجل التراكيز العالية للركيزة فإن سرعة التفاعل تكون مستقلة عن $[S]$

ملاحظات حول K_m :

- K_m هو ثابت أنزيمي بالنسبة لركيزة ما
- لكل أنزيم ثابتة ميكائيليس K_m خاصة به بالنسبة لركيزة محددة
- K_m تعبر عن ألفة الأنزيم للركيزة، فقيمة K_m المنخفضة تعبر عن ألفة عالية بين الأنزيم والركيزة، والعكس بالعكس، أي قيمة K_m العالية تعبر عن ألفة منخفضة بين الأنزيم والركيزة .

مثال: أنزيم الهيكسوكيناز الدماغى يعمل على فسفرة الغلوكوز وركيزته هي D- غلوكوز و $K_m = 0.05$ ، أي الالفة عالية جدا بين الأنزيم والركيزة، وبالتالي الأنزيم قادر على العمل مهما كانت كمية الغلوكوز قليلة، لأن الغلوكوز هي الغذاء الأساسي للدماغ والخلايا العصبية

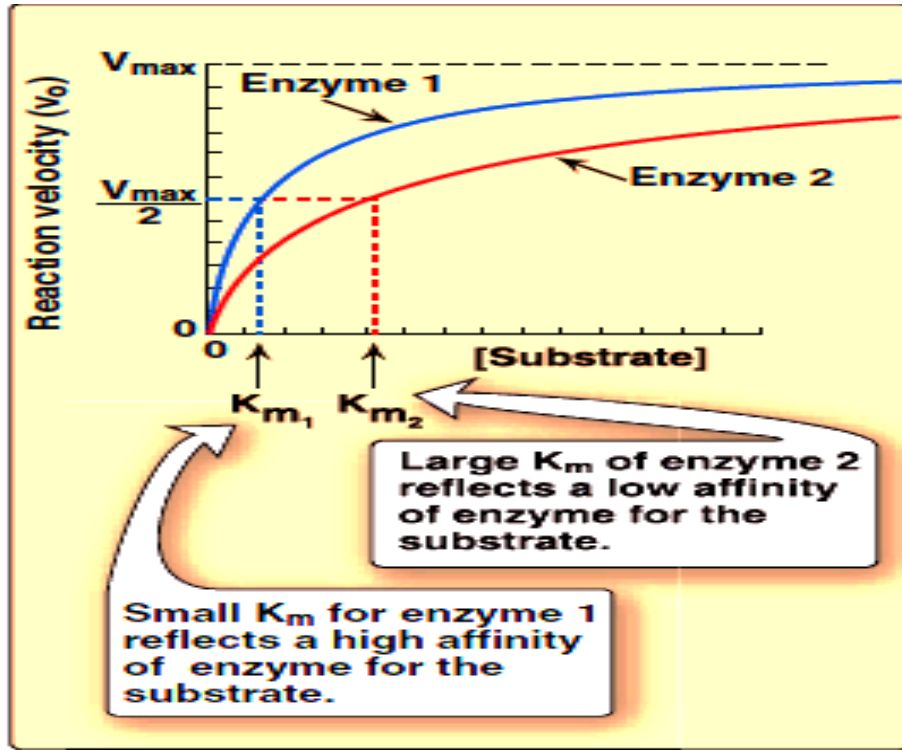


TABLE 6-6

K_m for Some Enzymes and Substrates

| Enzyme | Substrate | K_m (mM) |
|------------------------|-------------------------------|------------|
| Hexokinase (brain) | ATP | 0.4 |
| | D-Glucose | 0.05 |
| | D-Fructose | 1.5 |
| Carbonic anhydrase | HCO_3^- | 26 |
| Chymotrypsin | Glycyltyrosinylglycine | 108 |
| | <i>N</i> -Benzoyltyrosinamide | 2.5 |
| β -Galactosidase | D-Lactose | 4.0 |
| Threonine dehydratase | L-Threonine | 5.0 |

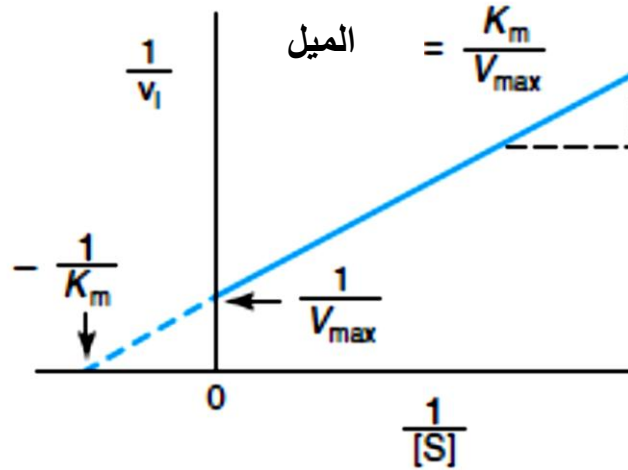
7- معادلة الخطية لينوفيرك- بيرك

يكون الخط البياني المشتق من معادلة ميكائيليس-منتن ليس خطي وبذلك يجعل من الصعب تحديد قيم K_m و V_{max} بدقة. ومن الأسهل تحديدهما برسم مقلوب السرعة الابتدائية بدلالة مقلوب التركيز وهو ما يدعى برسم

لينوفير-بيرك Lineweaver-Burk وتصبح علاقة ميكائيليس-منتن بالشكل

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

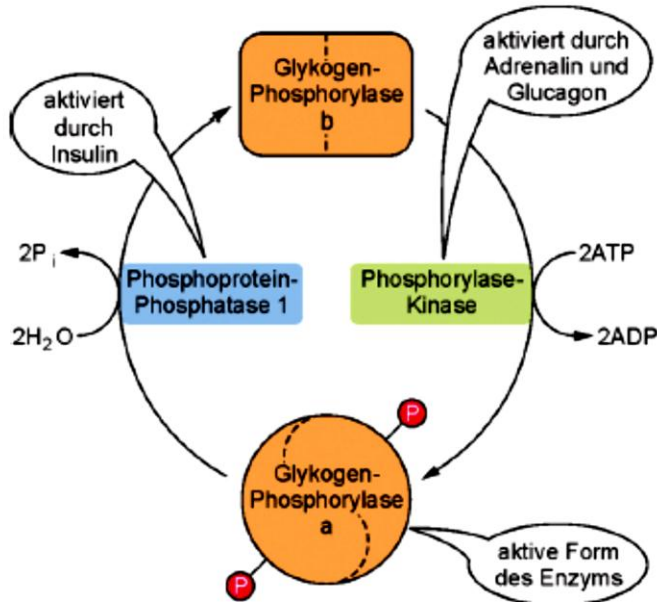
وهي عبارة عن معادلة خط مستقيم وتكون نقطة تقاطعه مع المحور Y هي $1/V_{max}$



8. الوظائف الحيوية للإنزيمات

تقوم الإنزيمات بالعديد من الوظائف ضمن العضويات الحية. تساهم الإنزيمات في كثير من الوظائف الحيوية منها:

- إحداث الحركة عن طريق حلقة الـ ATP من قبل الميوزين لتوليد التقلص العضلي.
- نظم الهضم حيث يعمل مثلا الأميلاز والبروتياز في تحطيم جزيئات كبيرة مثل النشاء والبروتينات على التوالي إلى جزيئات أصغر مما يمكن امتصاصها من قبل الأمعاء.
- عملية نقل الإشارة و تنظيم الخلية التي تتم غالبا عبر إنزيمات الكيناز و الفوسفاتاز. إن لإنتاج الإنزيم إمكانية في أن يسرع أو يخفض استجابة للتغيرات في البنية الخلوية إن هذا من التنظيم الجيني Gene regulation يدعى بتحريض Induction أو تثبيط Inhibition الإنزيم.



- طرق الإستقلابية: يعمل العديد من الإنزيمات معا بترتيب نوعي لإيجاد طرق استقلابية حيث يؤثر إنزيم في ركازة تعد ناتجا لتأثير إنزيم آخر. من دون وجود الإنزيمات لا يمكن للإستقلاب أن يتم أو أن يكون سريعا ليخدم متطلبات الخلية.

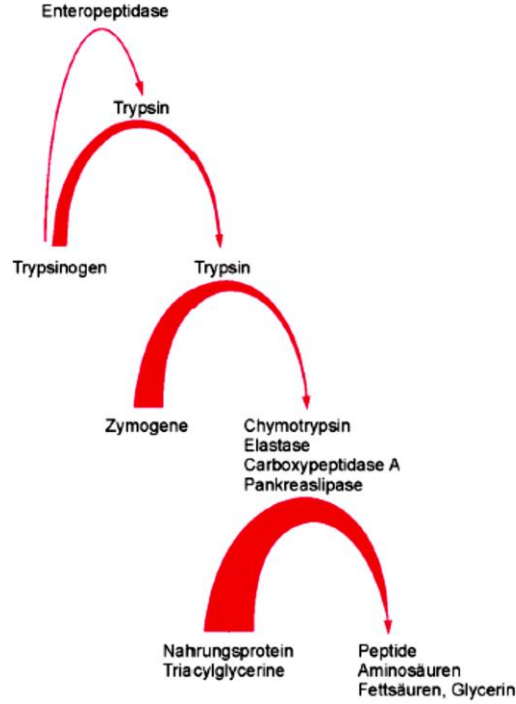
- تحرر الفيروسات من الخلايا مثل إنزيم Neurominidase الموجودة عند فيروس الإنفلونزا
- مضخات شوارد : مثل بعض الإنزيمات ATPase الموجودة في الغشاء الخلوي.

9 . تنظيم الأنزيمات:

يمكن أن تنظم الإنزيمات من خلال المثبطات أو المنشطات حيث يعد المنتج أو المنتجات النهائية للمسلك الاستقلابي مثبطات للإنزيمات الأولى من المسلك منظما ذلك كمية المنتج النهائي المصطنع من قبل المسالك الإستقلابية . تدعى آلية التنظيمية السابقة بآلية التلقيم الرجع السلمي. وكذلك تنظم الإنزيمات من خلال التعديلات ما بعد الترجمة كعملية الفسفرة مثل تتمثل الاستجابة للإنسولين بفسفرة العديد من الإنزيمات مما يساعد في عملية اصطناع الغليكوجين ويسمح للخلايا بالاستجابة إلى تغيرات غلوكوز الدم. مثال آخر للتعديلات ما بعد الترجمة يتضمن تشطر السلاسل عديدة الببتيد. يعد الكيموتربسين من البروتياز ذات التأثير الهضمي الذي ينتج من البنكرياس بشكل غير فعال ثم ينقل بهذا الشكل إلى المعدة حيث ينشط .

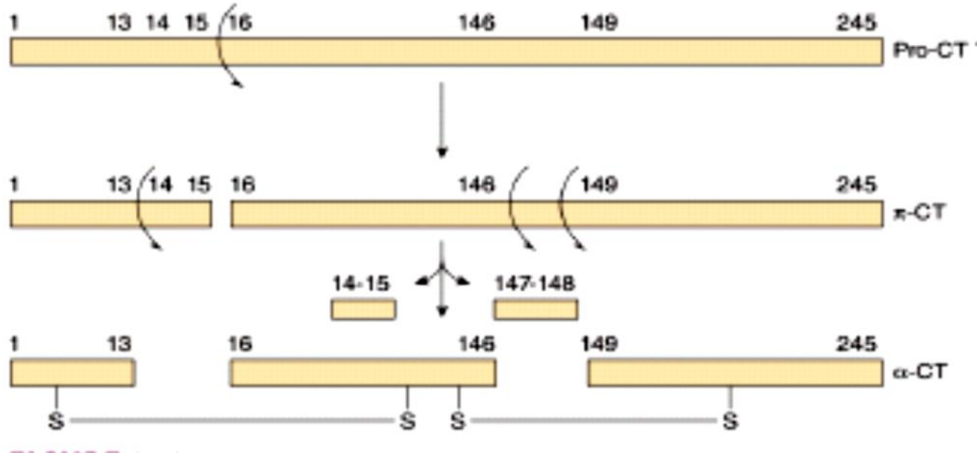
❖ **الطلائع الإنزيمات (الزيموجينات, البروانزيمات):** هي مولدات الإنزيم و تكون فيه السلسلة الببتيدية المكونة للأنزيم تحتوي على جزء ببتيدي إضافي يتم حذفه عند تنشيط الإنزيم . لاتكون عملية القص عشوائية و إنما يتم اختيار الحموض المراد قصها بشكل دقيق و اصطفائي, يؤدي إلى تغيير الشكل

الفراغي للطليةة . فمثلا عند تحويل طليعة الببسين (الببسينوجين) على ببسين يفقد 20% من وزنه الجزيئي, أما عند تحويل طليعة التريبسين (التريبسينوجين) إلى تريپسين يتم إقتطاع ست حموض أمينية و بالتالي لا يتغير كثيرا في الوزن الجزيئي , و كذلك عند تحويل طليعه الكيموتريبسين على كيموتريبسين فيت اقتطاع أربع حموض أمينية فقطو بالتالي لا يتغير الوزن الجزيئي كثيرا.



و لفهم آلية تحول طليعة الإنزيم إلى الشكل الفعال لندرس طليعة الكيموتريبسين إلى كيموتريبسين : تتألف طليعة الكيموتريبسين من 245 حمض أميني و يتم تحويلها إلى كيموتريبسين على 3 مراحل:

- ✓ يحصل فصل بين الحمضين 15 و 16
- ✓ ينتج عن المرحلة الاولى سلسلتين يحصل فيها ثلاث عمليات قطع انتقائية بين (13-14) و (147-146) و (148-149) مما يؤدي إلى اقتطاع أربع حموض أمينية
- ✓ ينتج عن المرحلة السابقة ثلاث سلاسل (A , B , C) لا تكون مفصولة عن بعضها إنما مرتبطة بروابط ثنائية الكبريت مشكلة الكيموتريبسين –ألفا و هو الشكل الفعال القادر على الارتباط بالركيزة.



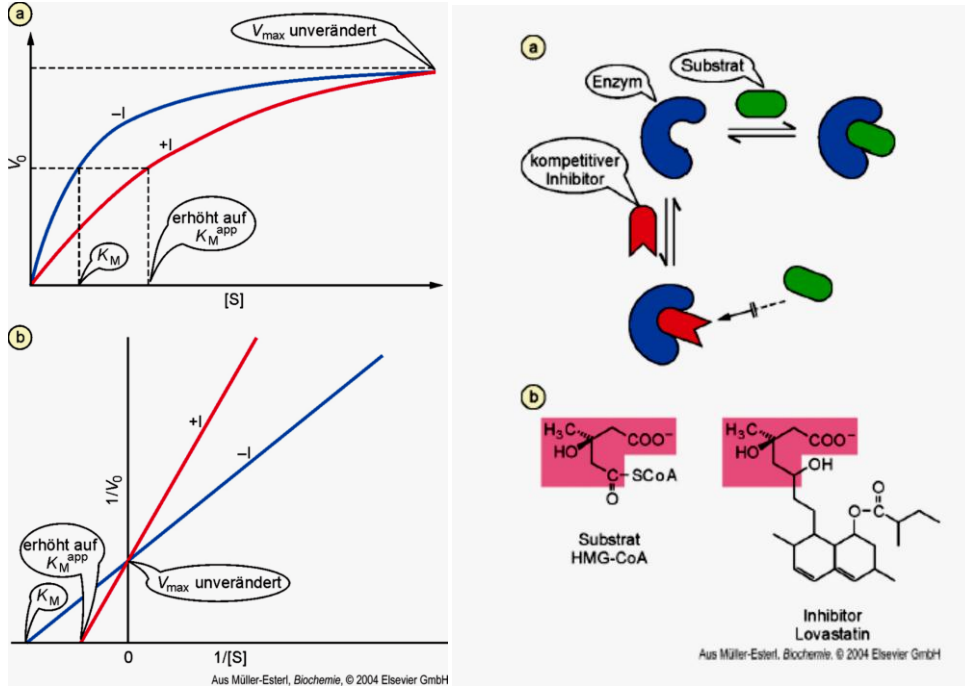
9. مثبطات الإنزيمات

هي عبارة عن جزيئات ترتبط مع الإنزيمات وتتنقص من فعاليتها بارتباطها مع الإنزيم عوضاً عن الركيزة يمكن لارتباط المثبط مع الإنزيم أن يكون عكوساً Reversible أو غير عكوس Irreversible

- المثبطات العكوسة: تتميز المثبطات العكوسة بارتباطها مع الإنزيم بروابط لا تكافؤية ضعيفة (روابط هيدروجينية، الروابط الكارهة للماء، و الروابط الشاردية) و بسرعة تفكك المعقد إنزيم- مثبط يوجد ثلاث أنواع من المثبطات العكوسة هي:

1- التنشيط التنافسي Comperative inhibitors:

هو التنافس المثبط و الركازة على الارتباط بالإنزيم لأن هذا النوع من المثبطات ترتبط بالمركز الفعال مانعة ارتباط الركيزة به وذلك لتشابه شكل الزمر الوظيفية في المثبطات و الركيزة. يمكن التغلب على هذا النوع من التنشيط بزيادة تركيز الركازة

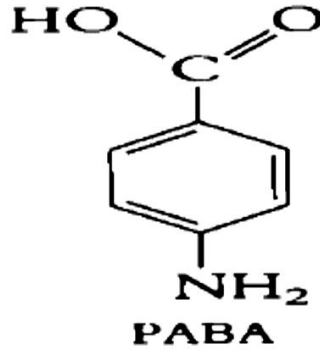
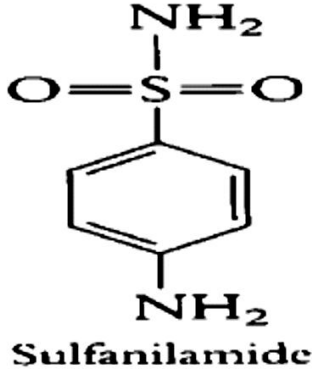


يمثل الشكل الحالة العامة للتنشيط التنافسي من خلال التمثيل الخطي لمعادلة لينويفر-بيرك. المثبط التنافسي لا يؤثر على السرعة العظمى للتفاعل ويشير تقاطع الخط البياني مع المحور X إن المثبط التنافسي يرفع من قيمة K_M الظاهري بالنسبة للركيزة. إن العديد من الأدوية تقوم بعملها العلاجي من خلال دورها التنشيطي التنافسي لفعاليات إنزيمية هامة سواء أكان ذلك في الخلايا الجرثومية أم في الخلايا الحيوانية و مثال على ذلك:

- تنشيط إنزيم Succinate dehydrogenase أحد إنزيمات دورة كريبس بواسطة الشوارد السلبية للمالونات Malonate.
- يستقلب الإيتانول في الجسم بأكسده إلى أسيت أدهيد و الذي يؤكسد بدوره على حمض الخل بتأثير إنزيم أدهيد أوكسيداز . يعد التفاعل الثاني سريعا ولذلك لا يتراكم الأسيت أدهيد في الجسم . يثبط الدواء Disulfiram إنزيم أدهيد أوكسيداز مسببا ذلك تراكم الأسيت أدهيد مع حدوث تأثيرات جانبية مثل الغثيان و الإقياء يستخدم الدواء السابق للمساعدة على التخلص من الإدمان على تناول الكحول.

◆ السلفاميدات Sulfanil Amide

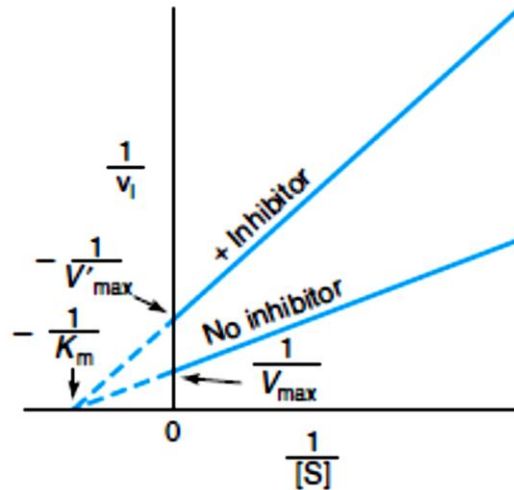
- ◀ التي تنافس حمض الجاوي (بارا أمينو حمض البنزويك PABA) على الدخول في تشكيل **حمض الورق** (حمض الفوليك¹) الضروري لنمو الخلايا الجرثومية؛ فالجراثيم لا تستطيع اصطناع حمض الورق الضروري لاستمرارية حياتها إلا بوجود الـ **PABA**.
- ◀ في حين أن بدن الإنسان يسلك لاصطناع هذا الحمض الورقي سبيلاً آخر، لذلك تؤثر السلفاميدات في الجراثيم فتهلكها.



التشابه بالصيغة الكيميائية بين
السلفاميد وال PABA

2- التثبيط اللاتنافسي Noncompetitive inhibition:

في هذه الحالة يمكن أن يرتبط المثبط مع الإنزيم أو مع المعقد و يكون الارتباط بين الإنزيم و المثبط في مكان بعيد عن مركز الفعال و هنا سيجاول المثبط تغيير شكل الإنزيم بحيث لا يتوافق مع الركيزة و لا يمكن التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز الركازة و عند دراسة معادلاتي سرعة التفاعل - لينوفير-بيرك- نلاحظ أن ثابت ميكائيلس - منتن لم يتغير و تتناقص السرعة العظمى و في هذه الحالة لا يمكن ان يترك المثبط الإنزيم من تلقاء نفسه بل لابد من استخدام مادة محرضة تحرضه على ترك الإنزيم (تثبيط عكوس) أما إذا لم يتم إزالة المثبط عن جسم الإنزيم فإنه يؤدي إلى تباطؤ التفاعل حتى توقفه و عندئذ يكون الإنزيم قد تخرب (تثبيط غير عكوس)



● المثبطات اللاعكوسة Irreversible Inhibitors

ترتبط المثبطات اللاعكوسة مع الإنزيم بروابط تكافؤية حيث تحتوي تلك المثبطات عادة على زمر وظيفية محبة للإلكترونات تتفاعل مع السلاسل الجانبية للحموض الأمينية مشكلة روابط تكافؤية. تعد المثبطات اللاعكوسة نوعية لصنف واحد من الإنزيمات وهي لا تعمل بتنشيط جميع البروتينات عن طريق تحطيم بنية البروتين ولكن بشكل نوعي يتغيير الموقع الفعال للإنزيم الهدف.

من الأمثلة على المثبطات اللاعكوسة مركب Diisopropylfluorophosphate , و هي مادة موجودة في مبيدات الحشرية , الذي يثبط إنزيم الكولين استراز بالتفاعل مع ثمالات الحمض الأميني السيرين في الموقع الفعال للإنزيم في مشابك الخلايا العصبية فيؤدي هذا إلى حدوث سمية عصبية بجرعات مميتة تقدر بأقل من 100 مغ. يعمل إنزيم الأستيل كولين استراز الضروري لوظيفة الخلايا العصبية على تفكيك الناقل العصبي الأستيل كولين إلى الأسيتات الكولين.

هناك نوع آخر من المثبطات هي المعادن و من أهمها Pb^{+2} , Hg^{+2} , Ag^{+} التي تخريب السيستئين الموجود في الموقع الفعال الضرورية لصناعة الدسم و البروتينات. و تكثر حالات التسمم بالرصاص عند العمال الذين يعملون في قطاع محروقات و هذا التسمم مزمن لا يؤدي إلى الموت و لكنه يثبط إنتاج الهيموغلوبين و يسبب فقر الدم و مرض البروفيريا الثانوية.

10. استعمالات المثبطات:

تستخدم المثبطات الإنزيمية غالباً كأدوية و لكنها يمكن أن تعمل كذلك كسموم. يتمثل الفرق الرئيسي بين الأدوية و السموم بمقدار الكمية المستخدمة و عليه يمكن اعتبار الأدوية مواد سامة عند بعض المستويات. يعد الأسبرين مثبطاً إنزيمياً يستخدم كدواء حيث يثبط إنزيمات COX-1, COX-2 التي تنتج المرسال الالتهابي البروستاغلاندين وبالتالي يثبط الألم و الالتهاب. بينما يعد السيانييد من المثبطات الإنزيمية اللاعكوسة التي ترتبط بالنحاس و الحديد في الموقع الفعال للإنزيم Cytochrome c Oxidase مما يحدث تثبيط للتنفس الخلوي.

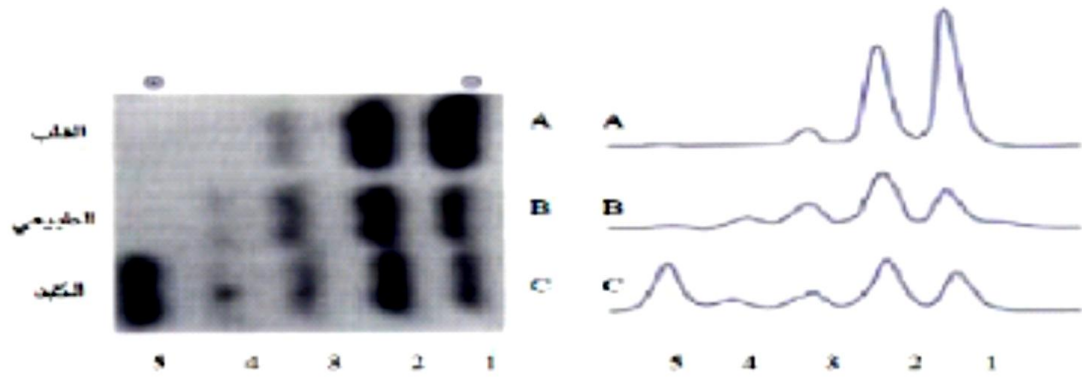
11. النظائر الإنزيمية (الإيزوإنزيمات):

النظائر الإنزيمية هي إنزيمات يختلف بعضها عن بعض بتسلسل الحموض الأمينية و لكنها تعمل على تحفيز التفاعل الكيميائي نفسه. تبدي النظائر الإنزيمية معالم حركية مختلفة (على سبيل المثال قيم ثابت ميكائيلس منتن , السرعة العظمى) . تعد النظائر الإنزيمية ضرورية لعملية الإستقلاب من أجل تأمين المتطلبات الخاصة لنسيج معين أو لمرحلة تطورية. أصبح لدينا معلومات عن العديد من نظائر نازعات الهيدروجين و ناقلات الأمين و إنزيمات الأوكسيداز و الفوسفاتاز . ويمكن فصل النظائر الإنزيمية عن بعضها البعض بواسطة الرحلان الكهربائي.

مثال إنزيم اللاكتات ده هيدروجيناز (LDH) يتواجد هذا الإنزيم في كل الأنسجة و خاصة في العضلات الهيكلية , الرئة , القلب , الكريات الحمراء , و البنكرياس و بعد استخدام الرحلان الكهربائي وجد أن له خمس نظائر و هي:

| النظير | مكان تواجده | نسبته المئوية | حالات ازدياده |
|--------|--|---------------|---|
| LDH1 | القلب والكريات الحمراء | 25-30 % | أفات النسيج العضلي القلبي (احتشاء العضلة، احتقان القلب...) |
| LDH2 | القلب والكريات الحمراء والكلية | 32-36 % | |
| LDH3 | الرئة والبنكرياس والعضلات الهيكلية والكريات الحمر | 20-25 % | أمراض الرئة (احتشاء، احتقان) |
| LDH4 | الكبد والعضلات | 7-10 % | أمراض كبدية (تشمع، التهاب، احتقان) والأمراض التي تصيب العضلات |
| LDH5 | الكبد والعضلات | 7-10 % | |

فصلت هذه النظائر المصلية على أسيتات السيللوز عند ال PH قيمته 8.6 ثم لونت لكشف الإنزيم فيظهر مقياس الضوء المستويات النسبية للنظائر الإنزيمية



يمثل A مصلا مأخوذ من مريض مصاب بإحتشاء بالعضلة القلبية و ذلك لزيادة LDH1, LDH2

يمثل B مصلا مأخوذ من شخص سوي

يمثل C مصلا مأخوذ من شخص مصاب بداء كبدية لزيادة نسبة LDH5

تفسير الاختلاف البنيوي بين النظائر الإنزيمية على الصعيد المورثي:

الإنزيم عبارة عن بروتين تصنعه المورثة أو أكثر و هو مؤلف من وحدة واحدة أو عدة وحدات متماثلة أو مختلفة و بالتالي إن شرط وجود النظائر هو أن يكون الإنزيم قليل القسيمات كما في حالتنا عندما تم الحديث عن LDH. فيتألف نظير لاكتات ده هيدروجيناز من أربع سلاسل عديدة الببتيد تسمى كل منها قسيم و يوجد نوعين من القسيمات و هي M عضلي (من Muscle) و H قلبي (من Heart) و يحوي الإنزيم لاكتات ده

هيدروجيناز أربع قسيمات و بما ان الفعالية الإنزيمية لا تتواجد إلا في جزيء رباعي يمكن أن تحدد القسيمات بالطرق الخمسة التالية:

HHHH, HHHM, HHMM, HMMM, MMMM

| نوع القسيمات | نوع النظير |
|--------------|------------|
| HHHH | LDH1 |
| HHHM | LDH2 |
| HHMM | LDH3 |
| HMMM | LDH4 |
| MMMM | LDH5 |

12. تصنيف الإنزيمات الموجودة في البلازما: يمكن تصنيف الإنزيمات الموجودة في الدم إلى مجموعتين

- الإنزيمات الوظيفية : تصنع معظم هذه الإنزيمات في الكبد و يطرحها في الدم لتقوم بوظائفها ضمنه و تكون لها وظيفة محددة منها عوامل التخثر و الرينين (الذي يفرز من خلايا الكلية)
- الإنزيمات غير الوظيفية : لا تقوم بأي وظيفة في الدم و إنما يكون مكان عملها الحقيقي هو ضمن الخلية و لكن تصل هذه الغنزيمات إلى الدم في الأحوال الفيزيولوجية الطبيعية كنتيجة لموت الخلايا و تخرابها بعد انتهاء العمر الزمني لها فتتحرر محتوياتها بما في ذلك الإنزيمات الحيوية لإلى النسيج الخلالي و منه تصل إلى الدم . مثل ناقلات الأمين اسباراتات ترانس أميناز AST و ألانين تراني أميناز ALT و نازعات الهيدرجين للاكتات LDH

13. الإنزيمات و التشخيص: توجد الإنزيمات في الجسم بكميات معينة و في حالات مرضية تزداد الإنزيمات أو تنقص و بالتالي كمية الإنزيمات (فعاليتها) هي التي تحدد كون العضوية سليمة أم لا. تتناسب الزيادة في فعالية الإنزيم طردا مع شدة المرض , و تكون ناتجة عن أحد الأسباب التالية:

- ✓ تخرب خلايا العضوية مما يؤدي إلى تحرر الإنزيمات داخل الخلية
- ✓ اضطراب في نفوذية الغشاء الخلوي
- ✓ انسداد القنية المفرزة و بالتالي انتقال المفرزات إلى الدم كما في مرض اليرقان الإسداداي حيث تنتقل مفرزات الصفراء إلى الدم.

يجب الانتباه إلى أن الزيادة في تركيز الإنزيمات ليست دوماً دليلاً على التخرب الخلوي أو الأذية النسيجية فهناك بليات أخرى مثل زيادة معدل تقلب , التكاثر السريع للخلايا,

❖ معايرة الإنزيمات: هي إجراءات مخبرية تستهدف قياس كمية الإنزيم , مثلا الرحلان الكهربائي, أو فعالية الحيوية , أي نلجأ إلى قياس النشاط التحفيزي للإنزيم و يعبر عنه بالوحدة الأنزيمية Enzyme Unit و ذلك بالاعتماد على قياس معدل تشكل ناتج معين أو تتبع التغيرات في تركيز الركازة. و كمثال على ذلك من أجل قياس إنزيم اللاكتات ده هيدروجيناز الذي يعتمد على قياس معدل أكسدة NADH إلى NAD⁺ أو قياس معدل تشكل البيروفات.

وحدة النشاط الإنزيمي: هي عدد الميكرومولات من الركيزة المتفاعلة أو الناتج المتحول في الدقيقة. من مساوئ استخدام قياس الإنزيمات كوسيلة تشخيصية هي وجود هذه الإنزيمات في خلايا الجسم المختلفة, أي أنها غير نوعية تماما فيصعب تحديد سبب الارتفاع في تركيز الإنزيم و تحديد العضو المصاب . فناقلات الأمين (AST أسبارتات ترانس أميناز, ALT ألانين ترانس أميناز) , نازعه الهيدرجين لكتات. ناقلة غاما غلوتامات, الفوسفاتاز القلوية و غيرها من الإنزيمات موجودة في عدة خلايا

بعض الأنزيمات المهمة في التشخيص

| التشخيص | الإنزيم |
|--|--|
| التهاب المعلقة الحاد يرافق مع الليبار والتريسين. التهاب الغدد النكفية. | الأميليز |
| سرطان البروستات (نوعي) | الفوسفاتاز الحامضي ACP (الحموضة المثالي له PH=5) |
| اضطرابات مختلفة في العظام (أمراض باليات العظام - داء باجيت - أورام عظمية - التهاب العظم الليفي), أمراض الكبد الانسدادية المتعلقة بالركودة الصفراوية | الفوسفاتاز القلوية ALP (القلوية المثالي له PH=10) |
| أمراض الكبد المترافقة مع ضرر الخلية الكبدية (التهاب الكبد الإنشائي والسمني) احتشاء عضلة القلب أمراض الكبد وخاصة انسداد الصفراء, والإدمان على الكحول, والتشمع الكحولي والصفراوي | ناقلات الأمين (ستدرس بالعملي): 1) ناقل أمين غلوتامني حصرمي SCPT أو ALT (ألانين ترانس أميناز) 2) ناقل أمين غلوتامني حماضي SCOT أو AST (أسبارتات ترانس أميناز) 3) ناقل البيبتيد غاما غلوتاميل ترانسفيراز أو ترانس بيتيداز ICDH |
| احتشاء العضلة القلبية | نارعة الهيدروجين اللبنة (اللاكتات ده) هيدروجيناز LDH |
| اختلال في عمل العضلات واحتشاء في العضلة القلبية | كرياتين فوسفوكيناز CPK |
| ينخفض في الأمراض الكبدية يرتفع في المتلازمة الكلالية | كولين استراز CHE (أنزيم نوعي) (سعره مرتفع) |
| الأمراض الكبدية والصفراوية | 5-نيكليوتيداز 5N (سعره مرتفع) |
| انخفاضه يدل على التخر الكبدني العدسي (داء ويلسون) | سيرولوبلازمين Ceruloplasmin غلوبين مصلي-Cu يظهر فعالية أوكسيدازية (يستطيع أكسدة الأمينات المختلفة) |

| | |
|---|--|
| احتشاء العضلة القلبية التهاب الكبد الفيروسي | ناقلات الأمين: ناقلة الأمين الاسبارتات (AST) GPT ناقلة الأمين الألائين (ALT) |
| التهاب البنكرياس الحاد | الأميليز |
| التنكس الكبدي العدسي (داء ويلسون) | السيرولوليزمين |
| الأدواء العضلية واحتشاء العضلة القلبية | كيناز الكرياتينين |
| أمراض كبدية مختلفة | ناقل بيتيد الجاما جلوتاميل |
| احتشاء العضلة القلبية | نازعة هيدروجين اللاكتات (نظائره الأنزيمية) |
| التهاب البنكرياس الحاد | الليباز |
| سرطانة البروستاتة النقيية | الفسفاتاز الحمضية |
| اضطرابات عظمية مختلفة، وأمراض الكبد الانسدادية | الفسفاتاز القلوية (نظائرها الأنزيمية) |

فمثلاً ارتفاع الفوسفاتاز القلوية يكون من أمراض العظم و أمراض الكبد (الإنسدادية) و بالتالي لا يمكن تحديد المرض المناسب لهذا الإرتفاع. ففي هذه الحالة نطلب تحليل إنزيم ناقلات الأمين لمعرفة إذا كان التشخيص للكبد أم العظام, فإذا كان الارتفاع في كليهما كانت العلة في الكبد (متعلق بالركودة الصفراوية) أما ارتفاع فقط في مستوى الفوسفاتاز القلوية كانت العلة في العظام. أما عند معايرة الفوسفاتاز الحمضية فارتفاعه يدل على آفة في البروستات لأنه نوعي موجود فقط في نسج البروستات. و بالتالي نلجأ إلى معايرة الإنزيمات في تحديد موضع الآفة (كبد , كلى , قلب ...) و تشخيص الأمراض الناتجة عن أذية في الخلايا (تخريب , إنسداد) و تشخيص الأمراض المناعية و الأمراض الوراثية , و التشخيص التفريقي لبعض الحالات المرضية التي لها عوارض نفسها و لكنها مختلفة السبب و المنشأ مثل اليرقان, ضخامة الكبد , أو الطحال و كذلك في مراقبة تطور الأمراض و مدى تحسن الذي توفره المعالجة و تقرير الشفاء و تشخيص حالات التنكس.