الفصل الثاني

الماء والمحاليل

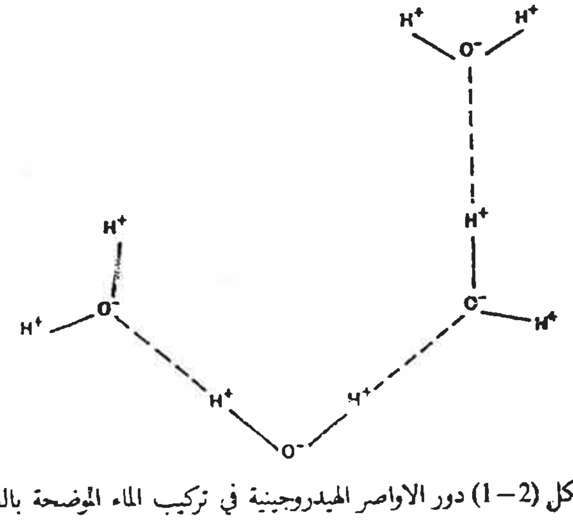
Water and Solutions

خصائص الماء :

يحتوي جسم الكائن الحي على أعلى نسبة من جزيئات الماء تقدر بـ 70% او أكثر من وزن الجسم مقارنة بالجزيئات الاخرى. وفضلاً عن وجود الماء بغزارة على سطح المعمورة فإنه يمتلك خواص كيمياوية وفيزياوية فريدة بحيث تلائم جداً الانظمة البايولوجية. إن معظم هذه الخواص مشتقة من القطبية Polarity ، ومن الآصرة الهيدروجينية Hydrogen bonding التي تملكها جزيئة الماء.

١ - قطبية جزيئة الماء Polarity of water Molecule

نظراً للكهربائية السالبة electronegativity لذرة الاوكسجين وزاوية الآصرة bond angle مابين ذرتي الهيدروجين، اصبحت جزيئة الماء قطبية، فذرة الاوكسجين تحمل شحنة سالبة جزئياً، وكل من ذرتي الهيدروجين تحمل شحنة موجبة جزئياً (انظر الشكل 2−1).



شكل (2−1) دور الاواصر الهيدروجينية في تركيب الماء الموضحة بالخطوط المتقطعة

ولكون الماء مركباً قطبياً فعليه يعد مذيباً جيداً للمركبات القطبية ، ولكنه غير قابل للامتزاج بالمركبات غير القطبية الحاوية على مجاميع كارهة للماء hydrophobic groups .

٢ – الآصرة الهيدروجينية لجزيئة الماء Hydrogen bonding of water molecule

تتكون الأصرة الهيدروجينية على العموم من تجاذب الحث الكهربائي electrostatic attraction مابين ذرة سالبة كهربائياً (عادة الاوكسجين او النتروجين) مع ذرة الهيدروجين المرتبطة بآصرة تساهمية مع ذرة اخرى سالبة كهربائياً . فجزيئة الماء في الحالة السائلة اذن لها القابلية على تكوين اواصر هيدروجينية مع جزيئات الماء الاخرى كما في الشكل 2–1 . ونظراً لاحتواء جزيئات الماء على هذه الخاصية فانه يمتلك الصفات الآتية :

١ – ارتفاع درجة حرارة التبخر Heat of vaporization

إن الكمية العالية من الحرارة وقدرها 540 سعرة / غم اللازمة لتبخر غرام واحد من الماء لها فائدة كبيرة للمحافظة على كمية الماء داخل الجسم بحيث ان تبخر الماء يصبح اقل مايمكن .

٢ – درجة انصهار عالية High melting point

تعد درجة انصهار الماء عالية اذا ما قورنت بدرجات انصهار المذيبات الاخرى كالميثانول والايثانول والبروبانول والاستيون والكلوروفورم . ان الاهمية البايولوجية لارتفاع درجة انصهار الماء تظهر في المحافظة على الكائنات الحية من الانجماد ، اذ كلما زادت درجة حرارة الانصهار تطلب رفع تلك الحرارة العالية من السائل لتحويله الى الصلب .

٣ – قابلية استيعاب عال للحرارة High heat capacity

إن كمية الحرارة اللازمة لرفع درجة حرارة غرام واحد من الماء تقدر بسعرة حرارية واحدة . ان هذه الكمية من الحرارة تعد عالية بالنسبة للماء . ان الفائدة البايولوجية المتوخاة من هذه الصفة هي ان الكائن الحي بامكانه أن يكتسب او يفقد حرارة عالية نسبياً بأقل مايمكن من تغيير في درجة حرارة الجسم .

عند إذابة مادة صلبة في سائل فإن هنالك ثلاثة امور تتم وهي :

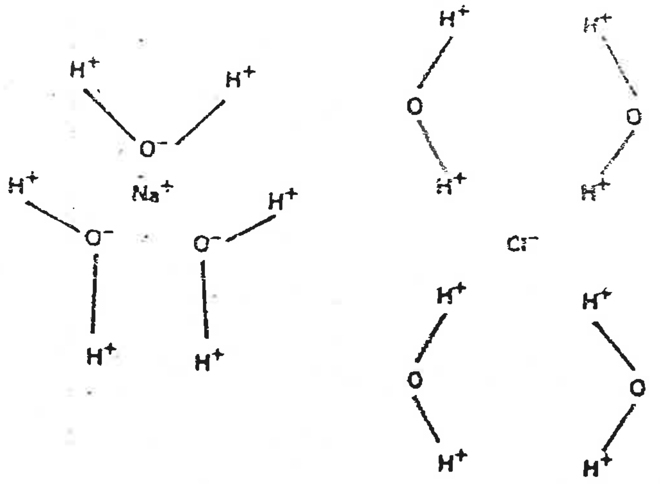
١ – تكسر الاواصر التي تربط بين الجزئيات او الايونات للمركب الصلب .

٢ – تكسر الاواصر التي تربط بين جزئيات السائل (المذيب) .

٣ –تشكيل أواصر جديدة مابين جزئيات السائل المذيب وجزئيات أو أيونات المركب المذاب .

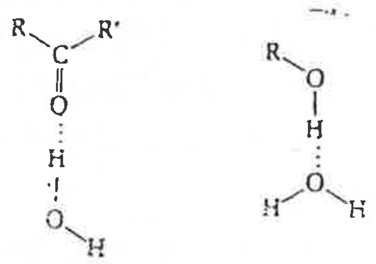
ولما كان الماء مركباً قطبياً Polar عالياً ، فهو مذيب جيد للجزئيات القطبية والأيونية ومن الامثلة على ذلك :

١ – يستطيع الماء أن يذيب ملح الطعام حيث ان الايونات تترتب بحيث تكون أيونات الصوديوم الموجبة قريبة من ذرات الاوكسجين الحاملة للشحنة السالبة في حين تكون أيونات الكلوريد السالبة محاطة بذرات الهيدروجين الحاملة الشحنة الموجبة (شكل 2–2) .



الشكل (2–2) ترتيب جزيئات الماء حول ايونات الصوديوم والكلوريد في المحلول .

٢ – ومن المركبات الاخرى التي تذوب في الماء هي المركبات العضوية الحاوية على مجاميع قطبية ، ومن هذه المركبات السكريات والكحولات والالديهايدات والكيتونات . ويعزى ذوبان هذه المركبات الى ميل جزئية الماء الشديد الى تكوين آصرة هيدروجينية مع مجاميع الهيدروكسيل للسكريات والكحولات ، او مجاميع الكاربونيل للالديهايدات والكيتونات ، كما هو موضح في الشكل (2–3) .



الشكل (2 – 3) تناصر هيدروجينية (أ) بين الماء والكحولات (ب) بين الماء مجاميع الكربونيل.

ذوبان المركبات غيرالقطبية Solubilisation of non – polar compounds

ان معظم المركبات الموجودة في الانسجة الحية هي قطبية سريعة الذوبان في الماء، غير ان هناك بعض المركبات غير القطبية كالدهون مثلا. ويتوجب على هذه المركبات ان تنتقل في المحلول الى الانسجة المختصة لكي تشارك في التفاعلات الحياتية. ولكي تتحول المركبات غير القطبية الى مركبات ذائبة في المحلول يجب ان ترتبط بجزيئة اخرى قطبية ذائبة في الماء. ومن الامثلة الحيوية على ذلك ما يأتي:

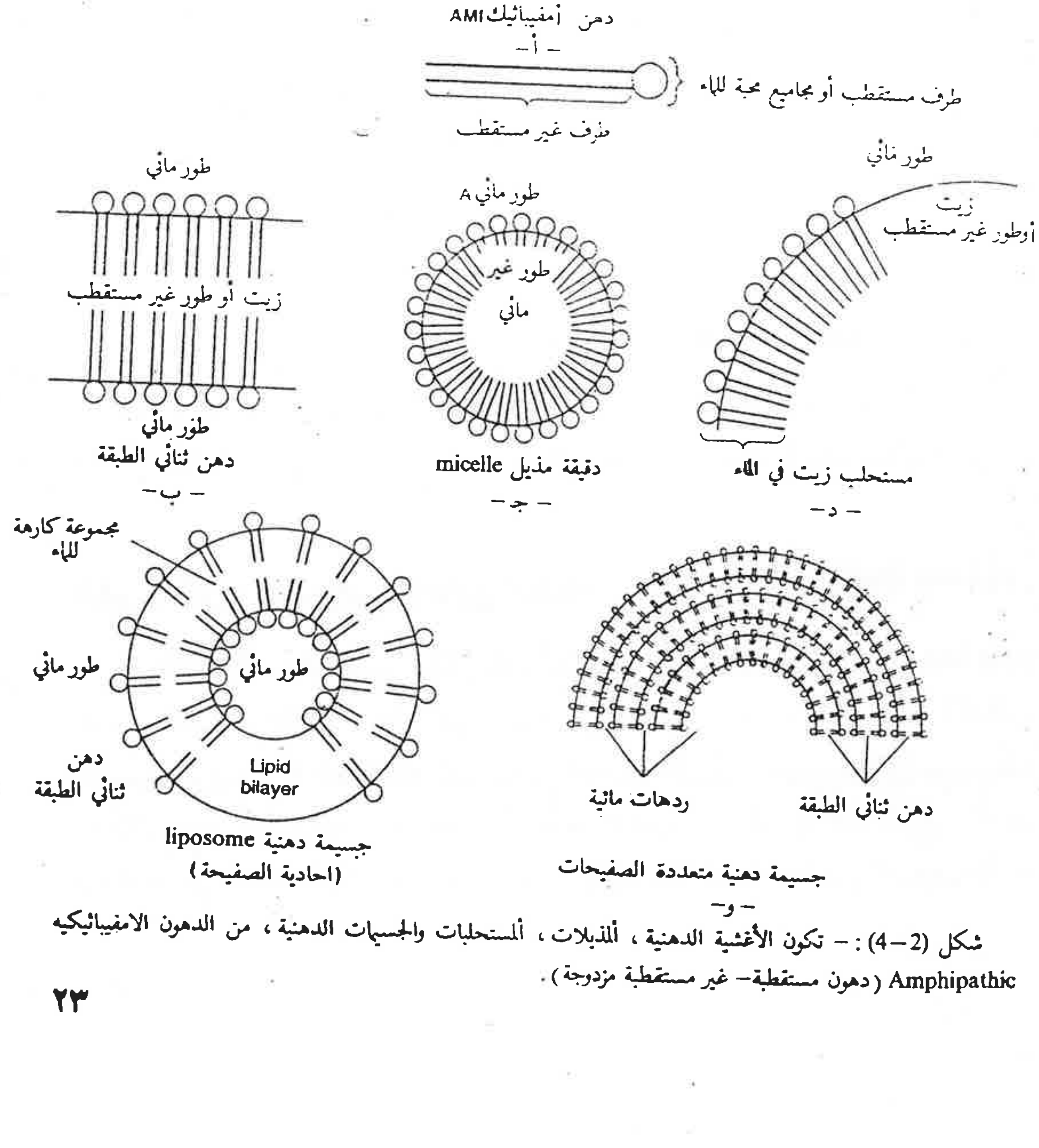
١ – الاتحاد مع بروتينات مصل الدم Association with plasma proteins

تعد بروتينات مصل الدم مثل الالبومين Albumin خير ناقل لكثير من المركبات غير القطبية كالاحماض الدهنية والبليروبين bilirubin وبعض العقاقير كالبنسلين والاسبرين. حيث تحتوي جزيئة الالبومين على سلاسل جانبية مشحونة كهربائياً، فهي اذن قطبية وذائبة في الماء. وفي نفس جزيئة الالبومين مناطق غير قطبية حيث تعد موقعاً للاتحاد مع المركبات غير القطبية.

٢ – تكوين المذيلات Micelles formation

إن الدهون عموماً غير ذائبة في الماء، حيث تحوي عموماً على مجاميع غير مستقطبة (هايدروكاربونية). إلاّ أن الاحماض الدهنية والدهون المستقطبة مثل الدهون الفوسفاتية والإسفنجية وأملاح الصفراء وغيرها (انظر فصل 4) تحوي جميعاً مجاميع مستقطبة أيضاً وبهذا فإن قسماً من جزيء هذا الدهن يكون كارهاً للماء (غير ذائباً في الماء) hydrophobic، وقسماً منه محباً للماء (ذائباً في الماء) hydrophilic. ويطلق على مثل هذه الدهون بالدهون القطبية – غير القطبية المزدوجة (أمفيباثيك amphipathic) شكل (2 – 4 – أ).

وعند تواجد مثل هذه الدهون (وبتركيز حرج) في وسط مائي فإنها تكون تجمعات (مذيلات) تدعى ميسيلس micelles. حيث أنه وبصورة تلقائية تتجه المجاميع غير المستقطبة (السلاسل الهيدروكاربونية) نحو الداخل، بعيداً عن الطور المائي، متجاذبة مع بعضها بوساطة قوى ڤاندر ڤالس Vander walls، بينما تتجه المجاميع المستقطبة الى الخارج مرتبطة بالطور المائي شكل (2 -4- جـ). وقد تذوب الدهون غير المستقطبة في الوسط المائي مكونة مستحلبات emulsions (وهذه دقائق او تجمعات أكبر من المذيلات) وذلك بإضافة مواد استحلاب emulsifying agents (مثل الليسيثين). إن املاح الصفراء bile salts، تكون مذيلات وجسيمات دهنية (ليبوسومات) liposomes في الوسط المائي، وبهذا تكون مهمة في تسهيل عملية هضم وأمتصاص الدهون. ويعتبر التركيب الأساسي للأغشية البايولوجية (الحيوية) عبارة عن طبقة ثنائية bilayer من دهون قطبية - لاقطبية مزدوجة amphipathic، شكل (2 - 4).



شكل (2-4) : - تكون الأغشية الدهنية، المذيلات، المستحلبات والجسيمات الدهنية، من الدهون الامفيبائيكيه Amphipathic (دهون مستقطبة- غير مستقطبة مزدوجة).

Salts & Ions الأملاح والأيونات

الاملاح ضرورية للمحافظة على الضغط الأزموزي والتوازن الحامضي- القاعدي للخلية . إن زيادة تراكيز الايونات داخل الخلية يزيد الضغط الأزموزي وبالتالي يسمح بدخول الماء الى داخل الخلية . أن تراكيز الأيونات في السائل الخلوي يختلف بأختلاف نوعية الأيونات . فعلى سبيل المثال تكون تراكيز ايونات البوتاسيوم والمغنيسيوم داخل الخلية عالية في حين أن ايونات الصوديوم والكلوريد تكون موجودة بشكل رئيسي خارج الخلية . كما يعد الفوسفات المصدر الرئيس داخل الخلية كما تحتوي الخلية على ايون البيكاربونات . اما ايونات الكالسيوم فهي موجودة في كل من خلايا الدم . اما في العظام فترتبط ايونات الكالسيوم مع ايونات الفوسفات والكاربونات لتكون ترتيبات بلورية . وتوجد الفوسفات في الدم والسوائل النسيجية على شكل أيون حر . ولكن اكثر الفوسفات يكون مرتبطاً على شكل دهون مفسفرة phospholipids ونيوكليوتيدات nucleotides وبروتينات مفسفرة phosphoproteins وسكريات مفسفرة suger phosphates . وهناك الفوسفات الأحادية $H_2PO_4^-$ والفوسفات الثنائية $HPO_4^{=}$ التي تعد منظماً لتثبيت pH الدم وسوائل الأنسجة .

وهناك أيونات أخرى موجودة في الأنسجة كالكبريتات والكاربونات والبيكاربونات والمغنيسيوم والأحماض الأمينية . وهناك معادن موجودة بأشكال غير متأينة كالحديد الذي يوجد في جزيئة الفيريتين Ferritin والسايتوكرومات Cyochromes وبعض الأنزيمات مثل الكتاليس Catalase وسايتوكروم اوكسيديس Cytochrome oxidase.

وأخيراً هناك آثار قليلة من المعادن منها المنغنيز والنحاس والكوبلت واليود والسلينيوم والنيكل والمولبدنيوم والزنك تعد ضرورية لعمل بعض الأنزيمات ولادامة فعالية الخلية .

pH and Buffers الرقم (الأس) الهيدروجيني والمحاليل المنظمة

تتم التفاعلات الحياتية في محاليل مائية أبقيت قريبة من التعادل وذلك بوساطة وجود المحاليل المنظمة buffers ، التي هي مزيج من حامض ضعيف وملح ذلك الحامض. الحامض القوي مثل HCl يتفكك كلياً بعكس الحامض الضعيف الذي يتفكك جزئياً وهذا التفكك يهبط أكثر بوجود ملح الحامض. الرقم الهيدروجيني pH في هذا المزيج ، الذي هو اللوغاريتم السالب لتركيز أيون الهيدروجين ، يكون دالة لنسبة الحامض الضعيف والملح

العائد له ، ويمكن قياسه بوساطة معادلة هينديرسون– هاسيلبالج –Henderson Hasselbalch equation. ان السوائل الخلوية للأنسجة تكون منظمة (محافظة) بوجود أملاح البيكربونات والفوسفات وكذلك بوجود التراكيز العالية من البروتينات.

وحيث ان التفاعلات الحياتية تحدث في وسط مائي أبقي على الأغلب قريباً من التعادل ، لذا فأنه يتوجب هنا بيان خواص الأحماض والقواعد والمحاليل المنظمة بأختصار شديد.

ان أفضل التعريفات للأحماض وللقواعد في الكيمياء الحياتية هي تعريفات برونيستيد Bronsted ، الذي عرّف الحامض بأنه المادة التي تهب بروتون وعرّف القاعدة بأنها المادة التي تتقبل بروتون. ويوجد لكل حامض ، قاعدة مقترنة به conjugate base كما يوجد لكل قاعدة ، حامض مقترن بها conjugate acid ، ويكون الأختلاف نتيجة بروتون مفقود أو مكتسب.

The Henderson – Hasselbalch Equation معادلة هينديرسون– هاسيلبالج

إعتبر HA يمثل حامض و A يمثل القاعدة المقترنة به، يمكن تمثيل تفكك هذا الحامض كما يأتي :

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

ان ثابت تأين او تفكك هذا الحامض K_a . يعرف بمدلول التوازن :

$$K_a = \frac{[H^+]\ [\bar{A}]}{[HA]} \qquad (1-2)$$

حيث تشير الأقواس المربعة الى التركيز المولاري للمادة. وبأعادة الترتيب والتعويض بأستخدام التعريفات : pH (الرقم الهيدروجيني) = $-\log[H^+]$ و $-\log Ka = pKa$ نحصل على :

$$[H^+] = \frac{K_a\ [HA]}{[\bar{A}]}$$

$$-\log\ [H^+] = -\log K_a + \log \frac{[\bar{A}]}{[HA]}$$

$$pH = PK_a + \log \frac{[\bar{A}]}{[HA]} \qquad (2-2)$$

ان المعادلة (2–2) هي معادلة هينديرسون– هاسيلبالج . ويمكن أن تكتب أيضاً كما يأتي :

$$PH = PK_a + \log \frac{[\text{مكتسب بروتون}]}{[\text{وأهب بروتون}]}$$

وكما ذكر أنفاً، يمكن ايجاد الرقم الهيدروجيني للمحلول المنظم باستعمال معادلة هينديرسون-هاسيلبالج ففي الحلول المنظم يكون التفكك كما يأتي :–

$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$ (تفكك جزئي للحامض الضعيف)

$BA \rightleftharpoons B^+ + A^-$ (تفكك كلي لملح الحامض الضعيف)

وحيث ان تركيز A^- المولاري الناتج عن تفكك الحامض HA يكون قليلاً جداً ويهمل عادة . وبهذا فان A^- تساوي كمية الملح BA . المضاف . وبما ان كمية HA المتفككة تكون قليلة أيضاً لذا فان تركيز HA يعد مساوياً للكمية المضافة . وبهذا فان المعادلة تصبح :

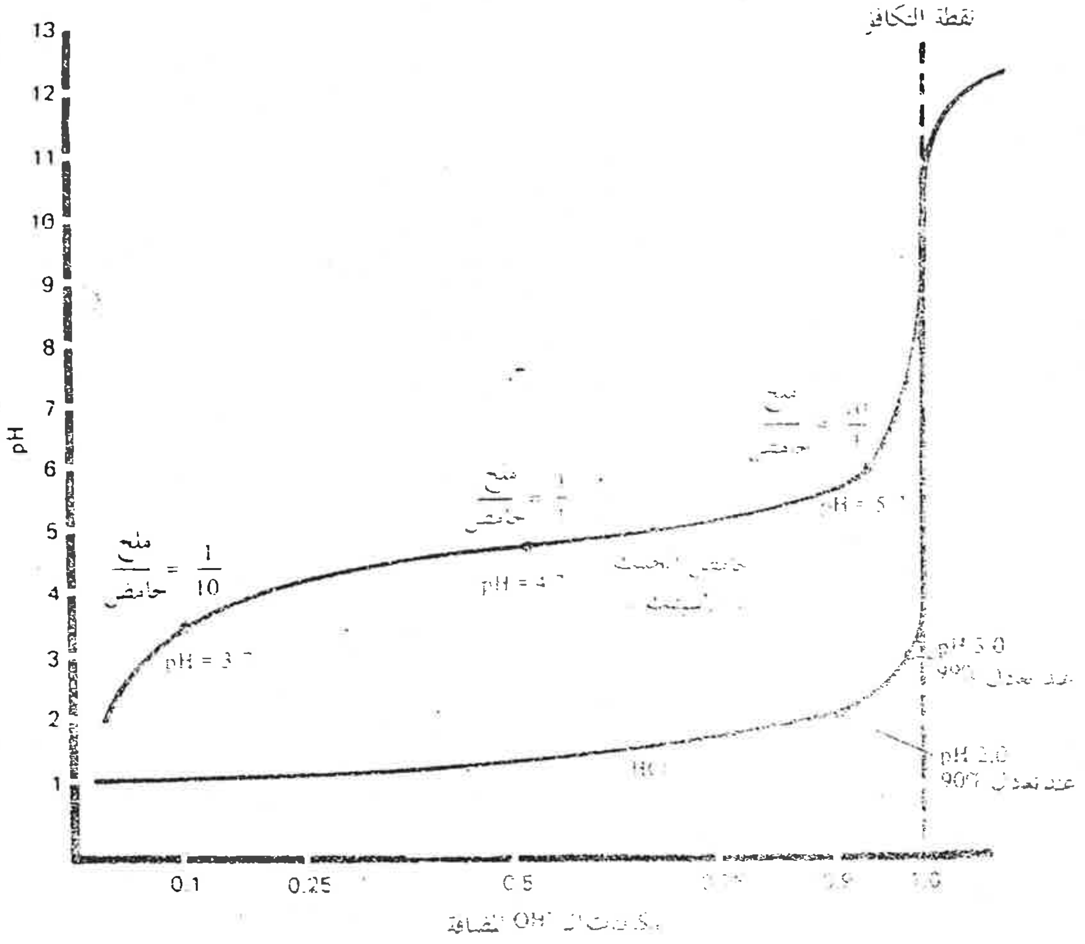
$$pH = PK_a + \log \frac{[BA]}{[HA]} \qquad ...(3-2)$$

وغالباً ماتكتب :

$$PH = PK_a + \log \frac{[\text{ملح}]}{[\text{حامض}]}$$

منحنيات المعايرة (التسحيح) والمحاليل المنظمة Titration Curves and buffers

المعايره هي اضافة مقادير من حامض قوي او قاعدة قوية الى محلول ما . في حين يقاس الرقم الهيدروجيني لذلك المحلول حتى يصل الى نقطة معينة كنقطة التعادل ، مثلاً . وبعد الوصول للرقم الهيدروجيني المطلوب ، يمكن ايجاد عدد مولات الحامض او القاعدة المضافة . والشكل (2–5) يبين منحني معايرة HCl و CH_3COOH مع قاعدة قوية ، وبشكل كهذا يمكن تحديد كمية الحامض المعاير أو القاعدة المعايرة في المحلول .



شكل (2—5) منحني المعايرة لمحلول (10 سم^3 (مل)) من HCl بتركيز N0.1 و CH_3COOH (PKa 4.7) مع قاعدة قوية.

وتبين نتائج المعايرة فيما اذا كان المركب في المحلول يعمل كمنظم أي بمعنى. اذا كان ذلك المركب يتغير رقمه الهيدروجيني ببطء، إستجابة لاضافة الحامض القوي او القاعدة القوية. ان معظم المحاليل المنظمة ينحصر عملها التنظيمي ضمن رقم هيدروجيني ذو مدى ضيق.

المحاليل المنظمة (Buffers) المستعملة في التفاعلات الكيميائية الحياتية

لكي يكون بالامكان استعمال حامض ضعيف محلولاً منظماً في التفاعلات الحياتية التي تجرى في المختبر(in، vitro)،ينبغي ان تكون الـ PK_a قريبة من الرقم الهيدروجيني المطلوب وذلك لجعل المحلول المنظم ذا سعة تنظيمية عالية. كما ينبغي أن يكون غير سام للتفاعل الحيوي المزمع دراسته وكذلك ينبغي ان يكون عديم اللون ولايمتص الاشعة فوق

البنفسجية حيث منطقة امتصاص البروتينات والاحماض النووية .كما أن المحلول المنظم الجيد، يجب ان يكون تفككه على اقله عند تغير درجة الحرارة والتركيز.

ويبين جدول (2 – 1) قيم pK_a لبعض الأحماض الضعيفة والمحاليل المنظمة البايولوجية شائعة الاستعمال.

جدول 2 – 1 قيم PK_a لبعض الاحماض المهمة لدى كيمياوي الحياة

حامض	pK_{a1}	PK_{a2}	PK_{a3}
حامض فوسفوريك	2.1	7.2	12.7
حامض ستريك	3.1	4.8	5.4
حامض فورميك	3.8		
حامض لاكتيك	3.9		
حامض اسيتيك	4.7		
حامض كاربونيك	6.1	10.4	
بيبيز PIPES[a]	6.7		
ايميدازول	7.0		
هيبيز HEPES[b]	7.3		
باريبتول (فيرونال)	8.0		
ترز Tris[c]	8.1		
أيون أمونيوم	9.3		

a – بايبيرازين –Ǹ,N بز (2– ايثان حامض سالفونيك)
Piperazine-N,Ǹ-bis (2– ethanesulfonic acid)

b – N-2- هيدروكسي اثيل بايبيرازين -Ǹ-2- ايثان حامض سالفونيك
N-2- Hydroxyethylpiperazine -Ǹ-2- ethanèsulfonic acid

c – تريز (هيدروكسي مثيل) امينوميثان tris (hydroxymethyl) amino methane

وبالرغم من ان اغلب التفاعلات الحياتية تحصل عادة عند رقم هيدروجيني قريب من التعادل، غير ان هناك محاليل فيزيولوجية ذات ارقام هيدروجينية بعيدة عن الرق الهيدروجيني 7 ويبين الجدول (2—2) مدى واسعاً من قيم PH لبعض السوائل البايولوجي الشائعة

جدول 2—2 قيم pH (التقريبية) لبعض السوائل البايولوجية الشائعة

المادة	PH
العصير المعدي	2.0 —
الليمون	2.4 —
الخل	3.4 —
البيرة	4.5 —
البول	7.5 —
الحليب	7.2 —
العصير المعوي	8.0 — 7.
بلازما الدم	7.5 —
البيض	8 — 7.6

انظمة المحاليل المنظمة في الجسم Buffer Systems in the body

يبقى الرقم الهيدروجيني في دم الانسان والحيوان ضمن مدى ضيق جداً للرقم 7.4 بالرغم من الانتاج المستمر لل CO_2 عن طريق التنفس الخلوي. حيث تبلغ كمية الـ CO_2 الناتجة لدى الانسان البالغ 10 — 20 مول في اليوم ، ويتميأ الـ CO_2 الناتج في الخلايا بفعل انزيمي ليكون حامض كاربونيك كما ينتج 0.1 مول من حامض الكبريتيك وحامض اللاكتيك وحامض β— هيدروكسي بيوتيريك ، نتيجة الأيض الخلوي ايضاً. إن اي حيود ولو كان بسيطاً لمعدل الرقم الهيدروجيني (pH) الفسيولوجي يحدث تغيرات بالغة في الفعاليات الايضية لذلك تعد المحافظة على الـ pH الفسيولوجية في المستوى الخلوي ضرورية من اجل استمرار الفعاليات الحياتية للكائن الحي على الوجه المطلوب. وتحتوي السوائل داخل وخارج الخلايا على محاليل منظمة يمكن اجمالها بما يأتي :

1 – محلول بيكربونات – حامض الكربونيك المنظم
Bicarbonate – carbonic acid buffer

وهو من المحاليل المهمة المنظمة لبلازما الدم. يشترك هذا المنظم في مقاومة التأثيرات الحامضية او القاعدية التي تأتي عن طريق بلازما الدم. في حالة مقاومة المنظم للحامض يتم ذلك كما يأتي :

$$NaHCO_3 + HCl \text{ -------------->> } H_2CO_3 + NaCl$$

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H_2O + CO_2$$

يلاحظ من الخطوتين اعلاه ،انه يزداد تركيز ايون الهيدروجين عند اضافته الى الدم القادم من الأنسجة ، وينجم عنه زيادة في تركيز H_2CO_3 ، وبالتالي زيادة في CO_2 المذاب في الدم ، وبالنتيجة يخرج الفائض منه على شكل زفير عن طريق الرئتين.
اما في حالة مقاومة المنظم للقادة فيتم كما في الخطوتين ادناه :

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_2^-$$

$$H^+ + OH^- \text{ ------------>> } H_2O$$

في هذه الحالة اي عند اضافة ايونات $\bar{O}H$ الى بلازما الدم، فان تركيز H^+ يقل في الدم مما يزيد في تفكك H_2CO_3 الى H^+ و HCO_3^-. ونتيجة لذلك فان كمية كبيرة من غاز CO_2 في الرئة تذوب في بلازما الدم للمحافظة على التوازن اعلاه.

2 – محلول فوسفات ثنائية الهيدروجين– فوسفات احادية الهيدروجين المنظم
Mono and dihydrogen phosphate buffer

يعد ايون ثنائية فوسفات الهيدروجين حامضاً ضعيفاً ، فهو يتأين الى ايون فوسفات احادي الهيدروجين وايون الهيدروجين كما في المعادلة :

$$H_2PO_4 \rightleftharpoons HPO_4^{=} + H^+$$

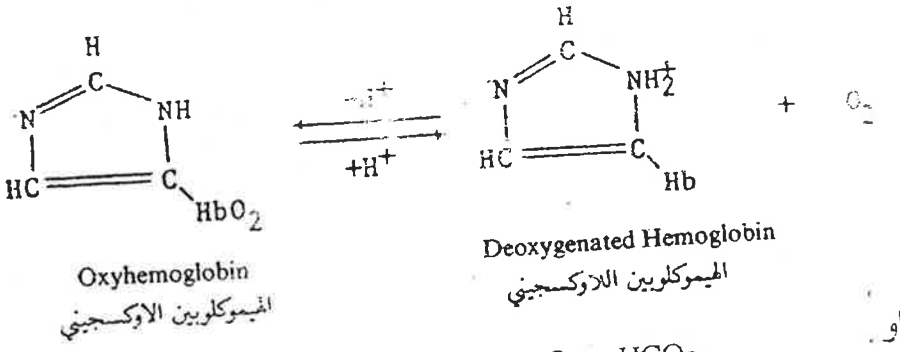
ان قيمة pK_a للحامض تعادل 6.8. ان هذه القيمة قريبة من الرقم الهيدروجيني للدم 7.4 ، وعليه فإن هذا المنظم جيد للدم.

3- بروتينات مصل الدم المنظمة
Serum protiens buffer

يحتوي مصل الدم على بروتينات عديدة تحتوي في تركيبها الكيمياوي على احماض امينية ذات حامضية ضعيفة ، مثل حامض الكلوتاميك والاسپارتيك ، وكذلك تحتوي على حوامض امينية ذات قاعدية ضعيفة ، مثل حامض اللايسين والارجنين والهستدين .هذه الاحماض تصلح ان تكون محاليل منظمة ، ولكن تعد هذه البروتينات منظمات ضعيفة اذا ما قورنت بمنظمات البيكربونات والفوسفات والهيموكلوبين في كرية الدم الحمراء .

4- الهيموكلوبين المنظم
Hemoglobin buffer

تحتوي كرية الدم الحمراء على الهيموكلوبين [illegible] حاوي على الحامض الأميني هستدين . إن لهذا الحامض قابلية على تقبل [illegible] في جزيئة الهيموكلوبين وطرح الاوكسجين [illegible] الشكل (2-6)، [illegible] الشكل انه في المناطق الحاوية على تركيز عالي من [illegible] الهيدروجين ، كما [illegible] الانسجة ، يتم فيها تحرر الاوكسجين من الهيموكلوبين . اما المناطق التي يقل فيها تركيز [illegible] روجين كالشعيرات الدقيقة في الرئة مثلاً ، فان الاوكسجين يبقى مرتبطاً بجزيئة الهيموكلوبين .



$$HbO_2^- + H_2CO_3 \rightleftharpoons HHb + O_2 + HCO_3$$

الشكل (2-6) الهيموكلوبين الاوكسجيني واللاوكسجيني

ان الكميات القليلة من الاحماض غير المتبخرة تنظم بوساطة محاليل البيكربونات والفوسفات المنظمة ولحد ما بواسطة بروتينات البلازما .

تمرينات الفصل الثاني

1 – احسب تركيز ايون الهيدروجين $[H^+]$ في :

أ – البلازما عند pH 7.4

ب – العصير المعدي عند pH 2.7

2 – احسب الـ pH لما يأتي :

أ – 0.001 M HCl

ب – 0.20 M NaOH

3 – احسب نسبة $[HPO_4^{-2}]/[H_2PO_4^-]$ في الدم عند pH 7.4 وفي البول عند pH 6.2 .

الفصل الثالث

الكاربوهيدرات Carbohydrates

الكاربوهيدرات : هي احدى الاصناف الرئيسية الاربع للجزيئات الحياتية الكبيرة. وتؤلف الكاربوهيدرات حوالي 10% من المواد العضوية الداخلة في تركيب الخلية الحية. وهناك حوالي خمسين نوعاً من المركبات الكاربوهيدراتية المختلفة في الخلية.

وظائف الكاربوهيدرات الرئيسة

للكاربوهيدرات اهمية فيزيولوجية فهي تعمل مصدر طاقة للخلية وذلك عند هدم سكر مثل الكلوكوز، وكذلك مخزن طاقة كيمياوية مثل النشا والكلايكوجين، كما تعمل كوحدات تركيبية لجدار وغشاء الخلية كما هو الحال في السيليلوز والبروتينات السكرية على التوالي. وتدخل الكاربوهيدرات في عملية توليد مكونات الخلية مثل البروتينات والدهون والاحماض النووية ومركبات كاربوهيدرات اخرى.

اصل المصطلح «كاربوهيدرات» يعود الى كون العديد من مركبات هذا الصنف لها الصيغة التجريبية $C_x(H_2O)_y$. والكاربوهيدرات مركبات او مشتقات مركبات متعددة الهيدروكسيل وأغلبها تملك مجموعة الديهايد اوكيتون حرة اوكامنة (مقيدة). ويطلق على السكر الذي يحوي مجموعة الديهايد، بألدوز aldose والذي يحوي مجموعة كيتون، بكيتوز ketose.

اصناف الكاربوهيدرات

يمكن تقسيم الكاربوهيدرات الى الاصناف الآتية :

I السيكريات الاحادية Monosaccharides او السكر البسيط. وتحتوي كل من جزيئاتها على وحدة سكر واحدة.

II السكريات قليلة الوحدات Oligosaccharides (ويضمنها السكريات الثنائية)، وتحتوي كل من جزيئاتها على 2—10 وحدات من السكر الاحادي.

III متعدد السكريات Polysaccharides، وهو يشمل جزيئات بوليمرية كبيرة لسكريات احادية. وله اوزان جزيئية عالية.

ويوضح الجدول (3 – 1) امثلة لأصناف الكاربوهيدرات المختلفة

جدول (3 – 1) امثلة لاصناف الكاربوهيدرات

الصنف العام	الصيغة	امثلة لمركبات موجودة في الطبيعة
I سكريات احادية		
ترايوز	$C_3H_6O_3$	كليسير الديهايد
بينتوز	$C_5H_{10}O_3$	ريبوز
هيكسوز	$C_6H_{12}O_6$	كلوكوز (الدوهيكسوز) وفركتوز (كيتوهيكسوز)
II سكريات قليلة الوحدات		
سكر ثنائي	$C_{12}H_{22}O_{11}$	مالتوز (وحدتي كلوكوز). سكروز (كلوكوز– فركتوز)
سكر ثلاثي	$C_{18}H_{32}O_{16}$	رافينوز raffinose (فركتوز– كلوكوز– كالاكتوز)
III متعدد السكريات		
بوليمرات بينتوز	$(C_5H_8O_4)_x$	زايلان xylane (متعدد زايلوز)
بوليمرات هيكسوز	$(C_6H_{10}O_5)_x$	النشأ (متعدد كلوكوز)

Stereoisomerism of Saccharides
التماثل المجسامي للسكريات

ان المركبات التي تمتلك صيغة تركيبية واحدة لكنها تختلف عن بعض في التوزيع الفضائي للذرات تعرف بالمتماثلات المجسامية stereoisomers. وان وجود ذرات كاربون غير متماثلة asymmetric (ذرة كاربون تتصل بأربعة مجاميع مختلفة) في مركب ما، تؤدي الى تواجد ذلك المركب بشكل متماثلات isomers. كما ان عدد المتماثلات لمركب ما، يعتمد على عدد ذرات الكاربون غير المتماثلة لذلك المركب ويحدد بالعلاقة التالية:

عدد المتماثلات = 2^n

n = عدد ذرات الكاربون غير المتماثلة.

ان التماثل الجسامي Stereoisomerism ، ظاهرة عامة تشمل التماثل البصري optical isomerism ، التماثل التركيبي Structural isomerism والتماثل الهندسي geometric isomerism .

التماثل البصري (الفعالية البصرية) للسكريات

Optical isomerism of saccaharides

بالرغم من ان معظم المركبات الحياتية الحياتية تحوي مراكز غير متماثلة . غير ان هذه الحالة تتجلى بوجه خاص في الكاربوهيدرات . ان المركبات التي تملك ذرة كاربون متصلة باربع مجموعات مختلفة (ذرة كاربون غير متماثلة) تكون فعالة بصرياً optically active . وهذه المركبات تمتلك خاصية تدوير مستوي الضوء المستقطب plane polarized light . وعند وضع محلول مركب فعال بصرياً في جهاز مقياس الاستقطاب Polarimeter فانه يمكن قياس درجة دوران شعاع الضوء المستقطب المار خلال هذا المحلول . وعند دوران شعاع الضوء المستقطب باتجاه عقرب الساعة، يطلق على المركب بانه يميني التدوير dextrorotatory ويعطى له رمز (+ او d) بينما يطلق على المركب يساري التدوير levorotatory عند تدويره شعاع الضوء المستقطب عكس عقرب الساعة ويرمز له (− او l) . ويمكن استخدام جهاز مقياس الاستقطاب ايضاً في تحديد تركيز المادة في المحلول عندما تكون درجة التدوير البصري النوعي معلومة وذلك باستعمال العلاقة الآتية :

$$[\alpha]_{\lambda}^{t} = \frac{100 \times \alpha \text{ (الملاحظ)}}{C \times l}$$

حيث ان :

$[\alpha]_{\lambda}$ = درجة التدوير البصري النوعي في درجة حرارة (t) وضوء ذي طول موجي معين (λ) .

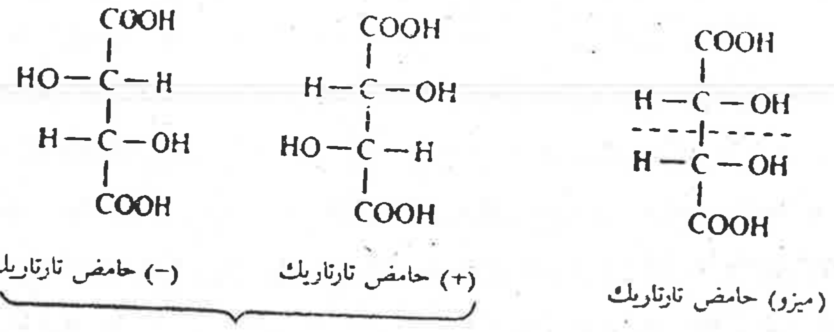
α (الملاحظ) = مقدار التدوير الملاحظ الذي يحصل للضوء المستقطب ويقرأ بوساطة الجهاز.

C = التركيز، غم للمادة المستعملة / 100 سم ^{3} (مل) من المحلول .

l = طول انبوبة القياس (دسم)

ومن الامثلة للسكريات الفعالة بصرياً والموجودة في الطبيعة هو سكر الكلوكوز، الذي يكون يميني التدوير بدرجة $[\alpha]_D^{20} = 52.7^o +$ ، والفركتوز يساري التدوير لشعاع الضوء المستقطب بدرجة $[\alpha]_D^{20} = 92.4^o -$
وبسبب كون محلول الكلوكوز يمين التدوير البصري لذا يطلق عليه ديكستروز dextrose.

ان المركب الذي تكون فيه ذرتا الكاربون غير المتماثلة متشابهتين كما في حامض التارتاريك tartaric acid يمكن ان يكون بشكل يتمثل فيه مستوى للتماثل، حيث يكون نصف المركب صورة مرآة للنصف الثاني. مثل هذا التماثل يدعى ميزو meso وتكون الفعالية البصرية لمركب بهذا الشكل مساوية صفر.
ومن هذا يتضح ان هذه الانواع من المركبات لها ثلاث متماثلات بصرية، (+) و(−) وبشكل ميزو (انظر شكل 3 − 1).



شكل (3 − 1) متماثلات حامض التارتاريك

الصيغ التركيبية للمتماثلات الجسامية Structural Formulas For Stereoisomers:

متماثلات L و D — D and L isomers

تستعمل التعيينات (+) أو (−) للاشارة لنوع المتماثلات البصرية لمركب ما. غير ان هذا لايشير الى طبيعة الشكل الفضائي (مجسامي) للمركب. ان طبيعة الشكل الفضائي للكاربوهيدرات يمكن تعينها اعتماداً على التركيب الفضائي للسكر البسيط كليسر الديهايد. يلاحظ في مركب الكليسر الديهايد (شكل 3 − 2) ان مجموعة الهيدروكسيل OH- المتصلة بذرة الكربون غير المتماثلة، اما ان تكون موجودة في الناحية اليمنى من المركب فيسمى هذا D- كليسرالديهايد، او ان تكون في الناحية اليسرى من المركب عندها يسمى L- كليسر الديهايد. وعلى هذا الاساس فان السكريات الاحادية تقسم الى مجموعتين D و L معتمدة

L-كليسر الديهايد   D كليسرالديهايد

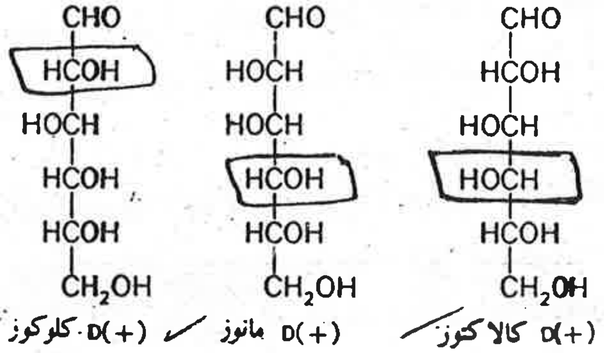
شكل (3–2) صيغ D –و– L – الجسامية للكليسير الديهايد

على موقع مجموعة الهيدروكسيل المتصلة بأبعد ذرة كاربون غير متماثلة ، عن ذرة الكاربون للكاربونيل . وان كون سكر ما في المجموعة D أو L لايشير الى طبيعة الفعالية البصرية لذلك المركب ، فبعض السكريات لها تركيب فضائي D ولها فعالية بصرية (–) في الوقت نفسه .

ان المتماثلات التي يكون احدها صورة مرآة للثاني ، مثل (+) و(–) حامض تارتاريك أو (D و (L) كليسر الديهايد ، تدعى متماثلات الصور enantiomers ، وان المزيج الذي يحوي كميات متساوية من متماثلات الصور، يعرف بالمزيج راسيمي racemic mixture ، وهذا المزيج ليست له فعالية ضوئية (انظر شكل 3–1) .

متماثلات إبيمرز :- Epimers

هناك نوع آخر من المتماثلات التركيبية مغايرة لمتماثلات الصور، فهي مركبات كيمياوية تختلف كل منها عن الاخرى في الخواص الكيمياوية والفيزياوية ، ويملك كل منها على الأقل ذرتي كاربون غير متماثلة . ويدعى هذا النوع من المتماثلات دياستيروايزوميرز diastereoisomers . ان متماثلات دياستيروايزوميرز التي تختلف فقط عند ذرة كاربون غير متماثلة واحدة يطلق عليها بالمتماثلات ايبميز epimers.وهذا يمكن توضيحه في الشكل (3–3) .



D(+) كلوكوز   D(+) مانوز   D(+) كالاكتوز

شكل (3–3) متماثلات إيبميرز

Aldose — Ketose isomers

متماثلات ألدوز- كيتوز

إن متماثلات ألدوز وكيتوز يمكن ايضاحها بالمتماثلين كلوكوز وفركتوز. يمتلك الفركتوز نفس الصيغة الجزيئية للكلوكوز، لكن يختلف عنه بالصيغة التركيبية، حيث يمتلك الفركتوز مجموعة كيتون في الموقع 2 بينما يمتلك الكلوكوز مجموعة الديهايد في الموقع 1 (شكل 3 – 4 و 3 – 5).

Alpha and Beta anomers

متماثلات الفا و بيتا أنوميرز

ان متماثلات السكريات الحلقية التي تختلف صيغها التركيبية عن بعض، في التوزيع الفضائي للمجاميع حول ذرة الكاربون هيمي اسيتال او هيمي كيتال (ذرة الكاربون الانوميرية anomeric carbon) فقط، تدعى متماثلات انوميرز anomers مثال، الفا (α) – D – كلوكوبايرانوز و بيتا (β) – D – كلوكوبايرانوز (شكل 3 – 7).

Monosaccharides

I السكريات الاحادية

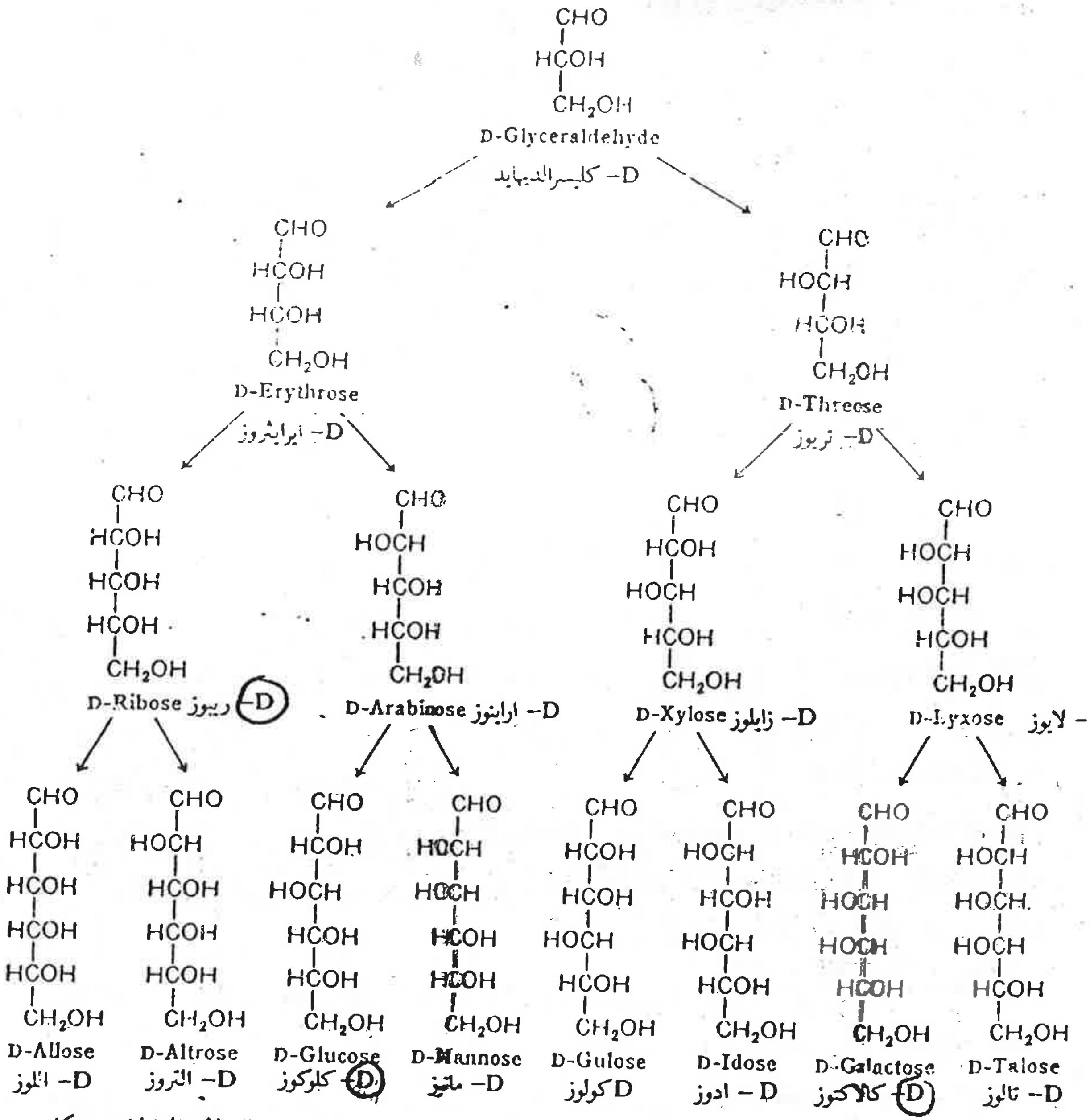
وهي ابسط انواع السكريات وتدعى احياناً السكريات البسيطة — simple. Sugars

السكر الاحادي هو مشتق لكحول متعدد الهيدروكسيل. ويمكن تصنيف السكريات الاحادية طبقاً لعدد ذرات الكاربون الموجودة في سلسلة جزيئ السكر الاحادي، فجزيئ السكر الذي يحوي سلسلة مكونة من ثلاث ذرات كاربون — سكر ثلاثي الكاربون — يدعى ترايوز triose. والسكريات التي تحوي سلاسلها اربع، خمس. ست او سبع ذرات كابون تسمى على التالي تيتروز tetrose، بينتوز pentose. هيكسوز hexose وهيبتوز heptose. كما ان كلا منها موجود بصيغة ألدوز وكيتوز كما هو مبين في شكل (3 – 4 و 3 – 5).

تتكون مشتقات ترايوز خلال عملية انحلال السكر اللاهوائي glycolysis، في حين تتكون مشتقات الترايوز، تيتروز، بينتوز، هيكسوز والسكر السباعي سيدوهيبتيولوز sedoheptulose خلال مسار فوسفوكلوكونات Phosphogluconate path way (الفصل 11) ومن السكريات الأحادية المهمة حياتياً هي السكريات الخماسية والسكريات السداسية

السكريات الخماسية الدوبنتوز aldopentose تدخل في التركيب الكيمياوي للنيوكليوتيدات nucleotides، الاحماض النووية nucleic acids (الفصل الثامن) وعدد

من مرافقات الانزيمات (الفصل السابع). حيث يدخل سكر D – ريبوز D – ribose شكل (3 – 4) في تركيب الحامض النووي الريبوزي RNA وبعض مرافقات الانزيمات مثل -NAD ، FAD و ATP. وتوجد السكريات الخماسية (ألدوبنتوز) مثل D – أرابينوز arabinose في الصمغ العربي، وفي جدران الخلايا النباتية: كما يوجد D – زايلوز D – xylose في الخشب وعرانيص الذرة، وينتج من تحلل متعدد السكر D – زايلان D – xylans (الموجود في جدران الخلايا النباتية). كما يوجد السكر الخماسي D – لايزوز D – Lyxose في العضلات القلبية (انظر شكل 3 – 4).

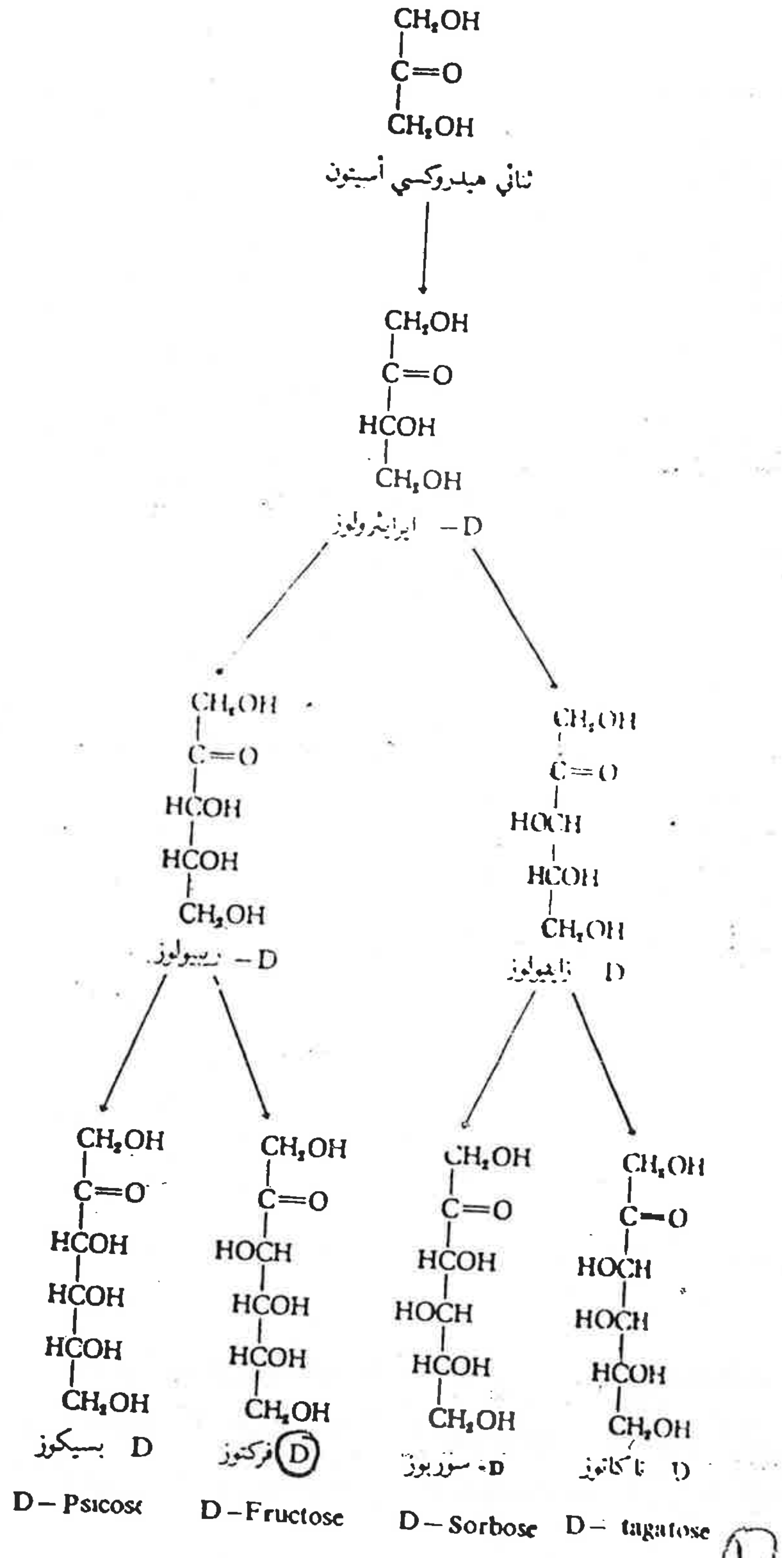


شكل (3 – 4) الصيغ التركيبية للمتماثلات الجسمانية لسكريات D – الدوز المهمة. وهناك عدد مماثل لهذه المتناظرات بشكل سكريات L – الدوز والتي هي صور مرآة لكل من المركبات اعلاه.

السكريات السداسية (هيكسوز) هي السكريات الاحادية الاكثر انتشاراً ولها اهمية غذائية وفيسيولوجية .فسكر الكلوكوز D – glucose هو سكر الدم والسائل الخلوي وتستخدمه الخلية مصدراً للطاقة. وهو موجود في عصير الفواكه وينتج من تحلل النشا وغيرها. D– فركتوز D– fructose (شكل3 – 5) هو اكثر السكريات حلاوة في المذاق، ويوجد في السائل المنوي ويعد مصدراً للطاقة في الحيامن. كما انه يتحول في الكبد والامعاء الى سكر الكلوكوز حيث يستفاد منه الجسم في العمليات الحياتية المختلفة. والفركتوز موجود في عصير الفاكهة والعسل وينتج من تحلل متعدد السكر انيولين inulin. اما السكر السداسي D– كالاكتوز D – galactose فهو من مكونات اللاكتوز (سكر الحليب) والسكريات الدهنية glycolipids والسكريات البروتينية glycoproteins الموجودة في الانسجة المختلفة مثل الدماغ والاعصاب (الفصل الرابع). ويتحول الكالاكتوز في الكبد الى سكر الكلوكوز لغرض الاستفادة منه في العمليات الحياتية المختلفة (شكل 3 – 4). والسكر السداسي D – مانوز D–mannose، يدخل في تركيب السكريات البروتينية glycoproteins وينتج من تحلل الصموغ ومن. تحلل السكر المتعدد مانان mannan.

التركيب الحلقي للسكريات

لقد تمت كتابة التراكيب المختلفة لمركبات الالدوز والكيتوز بشكل سلسلة مفتوحة (شكل 3-4 و3-5) وان مثل هذه التراكيب تكون ملائمة بالنسبة لمركبات ترايوز وتيتروز. أما السكريات التي تحتوي في صلب تركيبها على خمس ذرات كاربون او اكثر فانها موجودة بشكل تراكيب حلقية تكون فيها مجموعة الكاربونيل مقنعة (كامنة) ولا تظهر صفاتها الكيمياوية الأعتيادية. ومما يدل على هذا، كون الكلوكوز مثلا، ثابتاً نسبياً مع الكواشف التي تتفاعل عادة بسرعة مع مجموعات الالديهايد، وانه خامل تماماً عند تعرضه للهواء او الاوكسجين، بينما تميل الالديهايدات للتأكسد بسرعة تحت الظروف نفسها. والميزة الاخرى التي توجب وجود السكر مثل الكلوكوز بتركيب حلقي هي حقيقة وجوده بشكلين بلوريين. فاذا تم تبلور الكلوكوز في الماء فالنتيجة هي تكوين شكل يسمى ألفا (α) – D – كلوكوز والتي تكون درجة التدوير البصري النوعي لهُ هي $[\alpha]_D^{20} = +112.2$. أما اذا تبلور الكلوكوز من المذيب بايريدين فالنتيجة هي الحصول على بيتا (β) – D – كلوكوز ذي دوران نوعي $[\alpha]_D^{20} = +18.7$. علاوة على هذا فان هذين الشكلين لايختلفان في التركيب الكيمياوي. وعند اذابة α -D- كلوكوز في الماء فان التدوير البصري النوعي لهُ



شكل (3 – 5) الصيغ التركيبية للمتماثلات الجسامية لسكريات D – كيتوز المهمة. ويوجد عدد مماثل لهذه المتناظرات بشكل سكريات L – كيتوز، التي هي صور مرآة لكل من المركبات اعلاه.

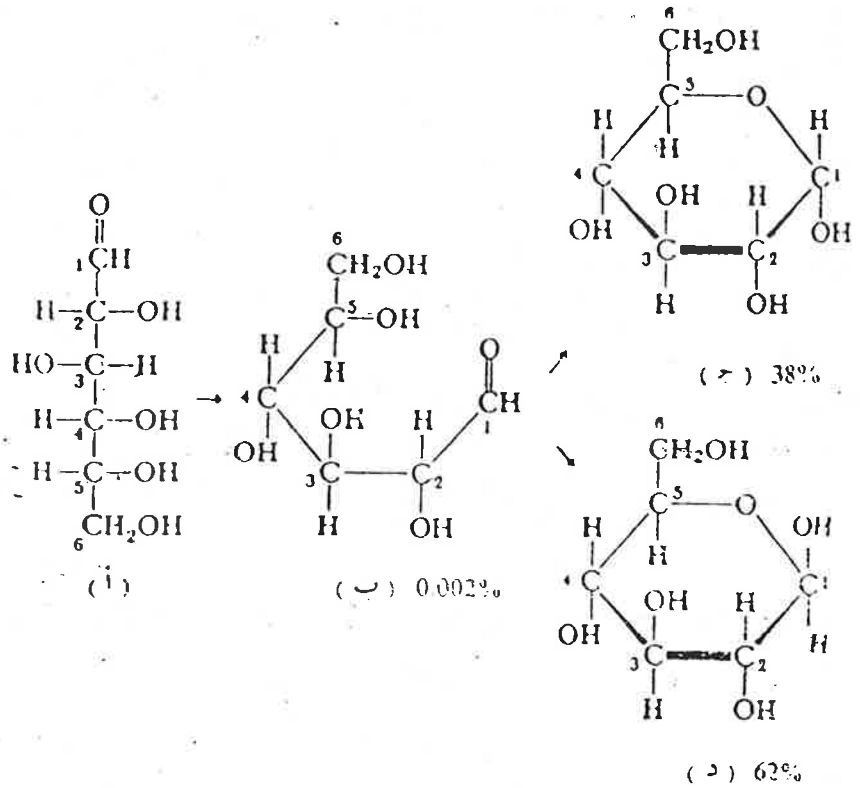
يتغير تدريجياً مع الوقت حتى يصل الى قيمة ثابتة وهي 52.7°. وعندما يذاب β -D-كلوكوز في الماء، فان التدوير البصري النوعي لهُ يصل الى القيمة نفسها (52.7°) أيضاً. ويسمى هذا التغير بتحول الدوران mutarotation، وهو نتيجة تكوين خليط متوازن يتكون ثلثه من α -D-كلوكوز وثلثيه من β -D-كلوكوز. ولقد استنتج أن هذين الشكلين المتناظرين - α وβ - عبارة عن تراكيب حلقية ذات ست ذرات، تكونت نتيجة تفاعل بين مجموعة الكاربونيل ومجموعة الهيدروكسيل المتصلة بذرة الكاربون 5. حيث يتكون مشتق يسمى هيمي أسيتال hemiacetal، يحتوي على ذرة كاربون غير متماثلة أخرى جديدة. وبهذا يستطيع الكلوكوز تكوين التركيبين الحلقيين المختلفين ألفا وبيتا (انظر شكل 3-7). يطلق على هذه الأشكال الحلقية السداسية للسكريات، بايرانوز pyranose وذلك لأنها من مشتقات المركب الحلقي غير المتجانس بايران Pyran (شكل 3-6). ويكون الأسم النظامي لألفا -D- كلوكوز هو α -D- كلوكوبايرانوز α-D-glucopyranose ولبيتا -D- كلوكوز هو β -D- كلوكوبايرانوز β-D-glucopyranose انظر شكل (3-7).

شكل (3-6) تركيب حلقتي فوران وبايران

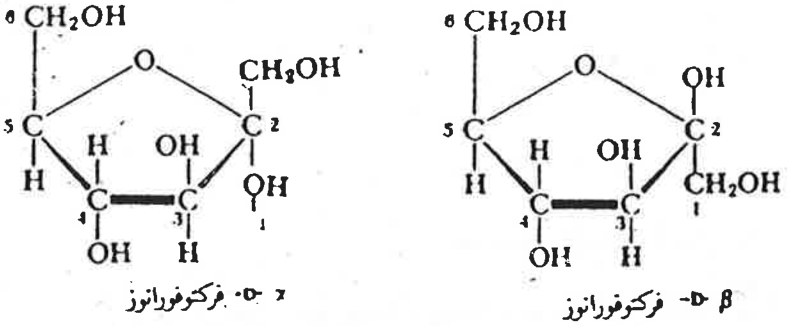
ان متماثلات السكريات التي تختلف عن بعض في توزيع المجموعات حول ذرة الكاربون الهيمي أسيتال فقط، تدعى متماثلات أنومير anomers، وأن ذرة الكاربون هذه تدعى ذرة الكاربون الأنوميرية.

ومن الممكن وجود الالدوهيكسوز بشكل حلقات خماسية وهي عبارة عن مشتقات الفوران ولذلك تسمى فورانوز furanoses. غير ان حلقة الالدوبايرانوز السداسية، اكثر ثباتاً من حلقة الالدوفورانوز ولهذا فهي اكثر وجوداً في محاليل الالدوهيكسوز (شكل 3-6)

وتوجد سكريات كيتوهيكسوز بشكلين أيضاً هما الفا وبيتا. وفي هذه السكريات، تكون مجموعة الهيدروكسيل عند ذرة الكاربون رقم 5 متفاعلة مع مجموعة الكاربونيل الموجودة عند ذرة الكاربون رقم 2 مكونة فورانوز بشكل ألفا وآخر بشكل بيتا، مثل α -D-فركتوفورانوز α -D-fructofuranose و β-D-فركتوفورانوز β -D-fructofuranose (شكل 3-8).

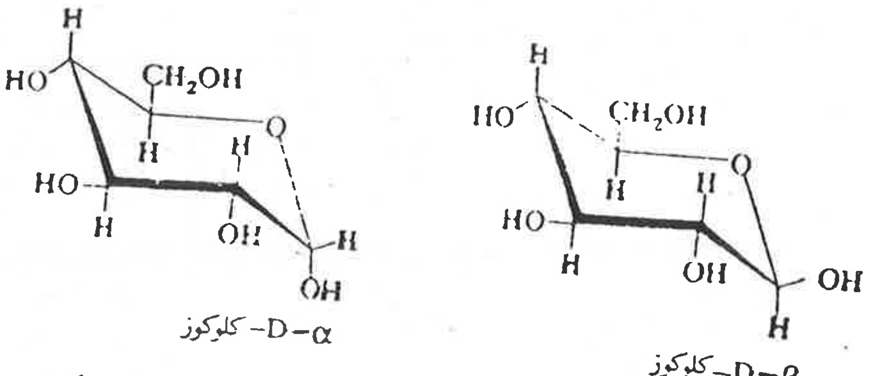


شكل (3-7) تمثيل لتراكيب سكر D-كلوكوز. (أ) شكل السلسلة المفتوحة (ب) شكل وسيطي للتكوين الحلقي (جـ) α-D-كلوكوبايرانوز (د) β-D-كلوكوبايرانوز



شكل (3-8) تراكيب ايزوميرية حلقية لـ D- فركتوز.

تستعمل صيغ هاورث الاسقاطية Haworth projection formula لتمثيل اشكال المتناظرات (المتماثلات) المختلفة للسكريات. ان حافة الحلقة القريبة من القارىء تمثل عادة بخطوط صلدة (شكل 3-7 و 3-8). وفي الحقيقة، ان الحلقة السداسية تكون غير مستوية وتوجد غالباً بشكل شبيه بالكرسي (شكل 3-9).

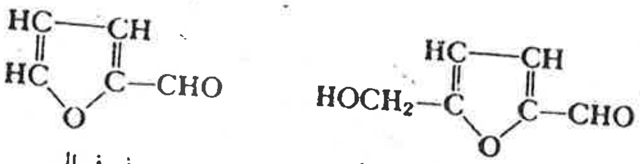


شكل (3-9) صيغ هاورث الأسقاطية لمتماثلات D-كلوكوبايرانوز بشكل الكرسي.

التفاعلات المهمة للكاربوهيدرات

1- تفاعلات اللامائية (فقدان الماء) Dehydration

ان سكريات ألدوهيكسوز وألدوبينتوز عند تسخينها مع الأحماض المعدنية المركزة تفقد جزيئات الماء لتكون مشتقات فورفورال. وينتج في هذه الحالة المركب هيدروكسي مثيل فورفورال من المركبات ألدوهيكسوز بينما ينتج فورفورال من مركبات البينتوز (شكل 3-10). وتتفاعل مركبات فورفورال مع المركب α- نافثول لتعطي لونا بنفسجيا.



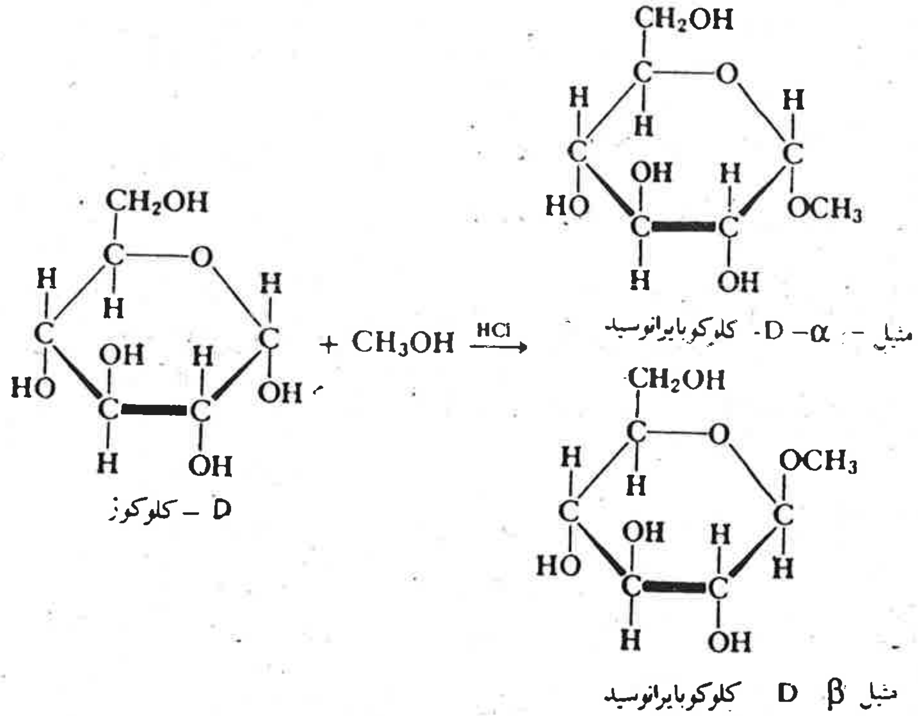
شكل (3-10) تركيب فورفورال وهيدروكسي مثيل فورفورال.

ويعد هذا اساساً للكشف المسمى مولش Molisch test الذي يعد كشفاً عاماً لوجود الكاربوهيدرات. كما يتفاعل الفورفورال أيضاً مع المركب اورسينول ليعطي لوناً أخضر وهذا يشكل الكشف المسمى بيل Bials test المستعمل للكشف عن وجود مركبات البينتوز.

2- تكوين الكلايكوسيد أو الاسيتال Glycoside or acetal formation

عند معاملة السكريات الأحادية مع كحول في محلول حامضي، تنتج مركبات كلايكوسيد glycosides. وهذا يعود الى وجود السكر بشكل هيمي اسيتال او هيمي كيتال (شكل 3-7) الذي يتفاعل مع جزيء كحول ليعطي مركبات كلايكوسيد او

مايسمى بالأسيتال. ويطلق على كلايكوسيد الكلوكوز والفركتوز بكلوكوسيد glucoside وفركتوسيد fructoside على التالي. كما يطلق على الجزء غير الكاربوهيدراتي في الكلايكوسيد بـ أكلايكون aglycone. وهكذا فانه عند تفاعل D كلوكوز والميثانول فانه ينتج مثيل α -D- كلوكوسيد ومثيل β -D- كلوكوسيد. وأن الميثانول هنا هو أكلايكون للمثيل كلوكوسيد (شكل 3-11).



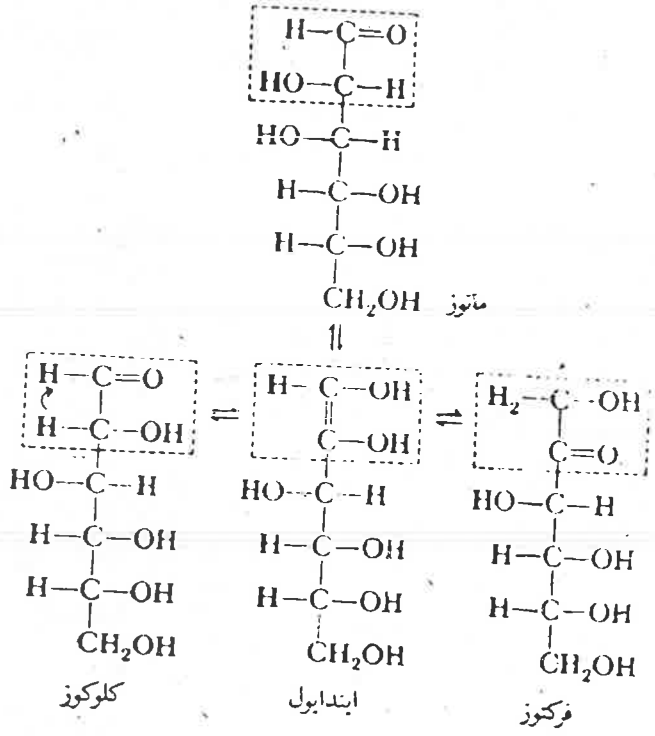
شكل (3-11) تكوين α و β كلايكوسيد.

إن أغلب السكريات الثنائية والمتعددة هي مركبات كلايكوكوسيد حيث أن مجموعة الهيدروكسيل الكحولية لسكر احادي ترتبط مع هيمي اسيتال للسكر الأحادي الآخر (انظر شكل 3-17 و3-24). وتوجد مركبات الكلايكوسيد في بذور وأوراق بعض النباتات كما توجد بشكل مركبات سيريبروسيد cerebrosides (انظر الفصل 4).

3 – تأثير المحاليل القاعدية على السكريات الاحادية

إن تأثير إضافة المحاليل القاعدية الى السكريات الاحادية، عند درجة حرارة الغرفة، تسبب تغير في التوزيع الفضائي للمجاميع حول ذرة الكاربون الأنوميرية وللذرة المجاورة لها فقط. وهذا يؤدي الى تكوين مزيج من المتماثلات.

عند اضافة الكلوكوز، الفركتوز او المانوز إلى محلول $Ba(OH)_2$ المشبع فإن كلاً من هذه السكريات تكون المركب الوسطي نفسه إينديول - enediol والذي يؤدي الى تكوين النوعين الاخرين من السكر (شكل 3-12) وعند معاملة السكريات مع المحلول القاعدي عند درجات حرارية عالية فإن هذا يؤدي إلى تبلمر السكر او تجزئته.



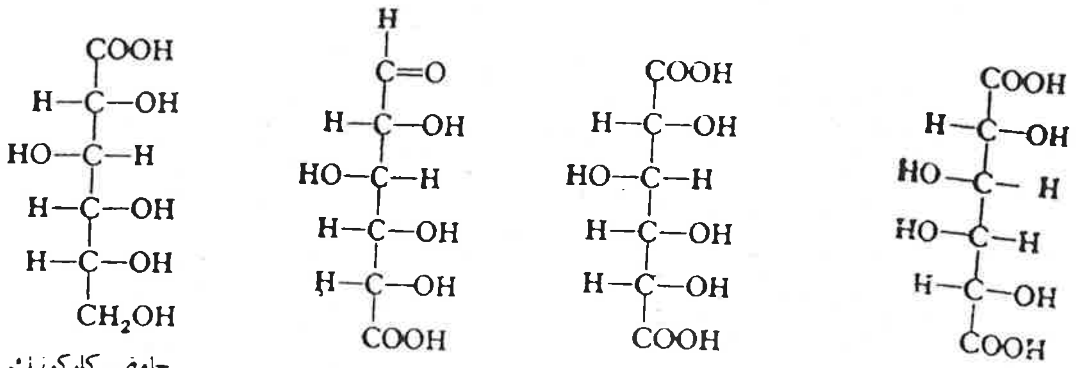
شكل (3-12) ألتحولات بين المتماثلات الدوز وكيتوز في المحاليل القاعدية

Oxidation reactions

4- تفاعلات الاكسدة

ان السكريات التي تحوي مجموعة الديهايد أوكيتون، حرة اوكامنة، تتأكسد في المحاليل القاعدية بوساطة Cu^{+2} و Ag^+. وهذا التفاعل هو الاساس لكشوفات بينيديكت Benedict، فيهلنك Fehling وبارفويد Barfoed والمرآة الفضية Silver mirror. وهذه الكشوفات تستعمل للكشف عن وجود السكريات التي لها قابلية اختزال (سكريات مختزلة) وغالباً ما تستعمل هذه الكشوفات في التقدير الكمي للكلوكوزفي الدم والبول.

وعند تأكسد مجموعة الالديهايد في الكلوكوز الى مجموعة كاربوكسيل فانه ينتج حامض كلوكونيك Gluconic acid. بينما ينتج حامض كلوكورونيك Glucuronic acid عند تأكسد مجموعة الكحول الاولية. ويتأكسد كلا المركبين اكثر ليعطيا حامض ساكاريك Saccharic acid (شكل 3-13).



حامض كلوكونيك　　حامض كلوكورونيك　　حامض ساكاريك　　حامض ميوسيك (كالاكتاريك)

شكل (3-13) التركيب الكيمياوي لأحماض سكرية .

يقترن حامض كلوكورونيك مع العقاقير والمركبات السامة حيث يطرح بعدها عن طريق البول . ان اكسدة الكالاكتوز بواسطة حامض النتريك المركز تنتج حامض ميوسيك mucic acid أو حامض كالاكتاريك galactaric acid ؛ سريع التبلور (شكل 3-13 . ويستعمل هذا التفاعل للكشف عن وجود الكالاكتوز.

ومن الاحماض السكرية الاخرى ذات الاهمية الحياتية هو حامض اسكوربيك ascorbic acid (فيتامين C) (انظر الفصل السابع) .

5- تفاعلات التخمر Fermentation

يوجد في خميرة الخبز مزيج من الانزيمات تدعى زايميس zymase وهذه تحول بعض سكريات الهيكسوز الى كحول وثاني اوكسيد الكربون (شكل 3-14)

$$\underset{\text{كلوكوز}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow[\text{زايميس}]{\text{zymase}} 2\ \underset{\text{كحول اثيل}}{C_2H_5OH} + 2CO_2$$

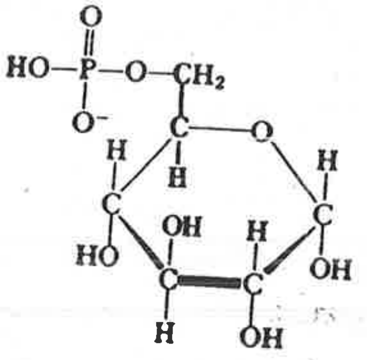
شكل (3-14) تخمر الكلوكوز

وهناك أنواع اخرى من التخمر اضافة الى التخمر الكحولي . حيث يتخمر سكر اللاكتوز (شكل 3-18)في الحليب الى حامض اللاكتيك . وقد ينتج حامض الخليك ، حامض الستريك ، حامض البيوتيريك أو حامض الاوكزاليك من عمليات تخمر خاصة .

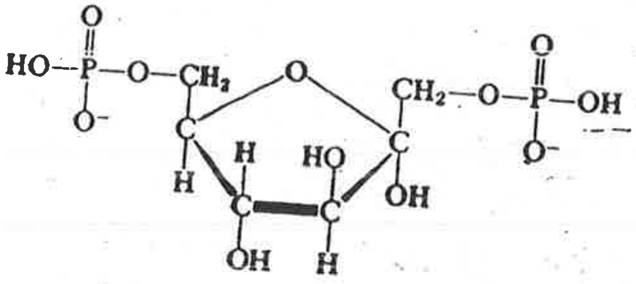
6- تفاعل السكريات الاحادية مع حامض الفوسفوريك (تكوين الاستر)

Ester formation

تتفاعل السكريات الاحادية مع حامض الفوسفوريك لتعطي سكريات مفسفرة ، وهذه تلعب دوراً مهماً في العمليات الأيضية للكاربوهيدرات ، شكل (3-15). انظر الفصل (11).



α – D – كلوكوز -6- فوسفات



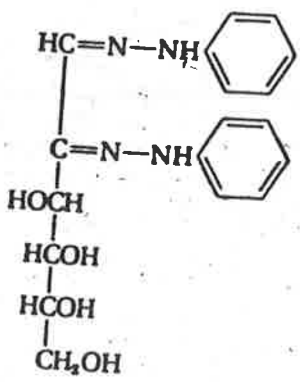
α – D – فركتوز -1،6- ثنائي فوسفات

شكل (3-15) أمثلة لسكريات مفسفرة تعمل كمركبات وسطية في عمليات ايض الكربوهيدرات

Osazone formation

7- تكوين الاوسازون

تتفاعل السكريات مع زيادة من مشتقات هايدرازن (عادة فينايل هايدرازن $ph.NH.NH_2$) لتعطي مركبات فينايل أوسازون الصفراء (شكل 3-16). وهذه المركبات سهلة التبلور، لها درجات انصهار عالية ، واشكال بلورية متميزة وتتكون كل منها بسرع محددة. ان مثل هذه الصفات جعلت بالامكان استعمال الأوسازون كمشتقات لغرض تشخيص الكاربوهيدرات. غير انه في الوقت الحاضر تستخدم الطرق الفيزياوية الحديثة

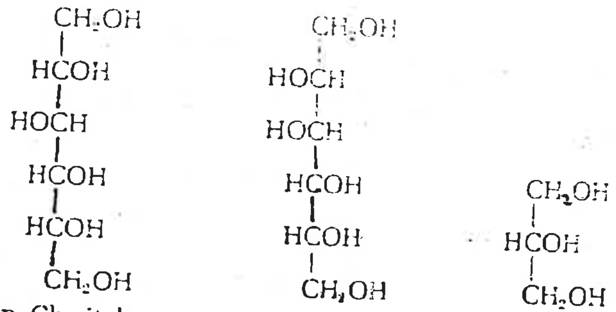


شكل (3-16) التركيب الكيمياوي للمشتق D-كلوكوز فينايل اوسازون

لأغراض التشخيص هذه، ومنها استخدام تقنية الرنين النووي المغناطيسي NMR وكروماتوغرافيا الغاز- السائل لمشتقات سيليل Silyl للمركبات الكاربوهيدراتية المعينة.

الكحولات السكرية (بوليول) Suger alcohols or Polyols

تختزل مجموعة الكاربونيل العائدة للسكريات الاحادية بواسطة الأنزيمات أو بواسطة غاز الهيدروجين وبوجود عامل مساعد معدني في الماء لتكون الكحولات السكرية. فمثلاً يؤدي اختزال الكلوكوز الى إنتاج الكحول السكري كلوسيتول glucitol (أو سوربيتول sorbitol). كما يؤدي اختزال مانوز الى إنتاج مانيتول mannitol. ومن الكحولات السكرية الاخرى والتي توجد بكثرة في الطبيعة ولها أهمية حياتية: هو الكليسيرول glycerol الذي يعتبر أحد المكونات الرئيسة للدهون. وللكليسيرول طعم شديد الحلاوة. والكحول السكري الآخر هو إنوسيتول inositol وله عدة متماثلات أهمها مايو- إنوسيتول myo-inositol الموجود في تركيب بعض الدهون الفوسفاتية وفي تركيب الفايتين phytin الموجود في أنسجة النباتات الراقية:

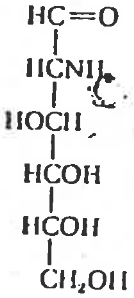
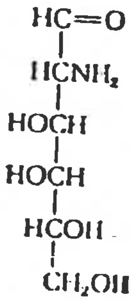


D-Glucitol (L-sorbitol) — D-كلوسيتول (L- سوربيتول)   D-Mannitol — D- مانيتول   Glycerol — D- كليسيرول

السكريات الأمينية Amino Sugars

تتكون السكريات الأمينية باستبدال مجموعة الهيدروكسيل الواقعة على ذرة الكاربون الثانية في الألدوهيكسوز بمجموعة أمين. ومن السكريات الأمينية المهمة، D-كلوكوز أمين D- glucosamine، الذي يدخل في تركيب متعدد السكر كايتين chitin الموجود في القشرة الصلبة المغطية لأجسام الحشرات. والسكر الأميني D- كالاكتوز أمين D- galactosamine الذي هو من مكونات متعدد السكر كوندرويتين سلفات Chondroitin sulfate الموجود في الغضاريف.

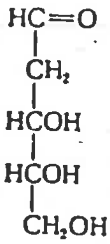
يوجد هذين السكريين الأمينيين في الطبيعة بشكل N- أسيتايل – كلوكوز أمين و N- أسيتايل كالاكتوز أمين:

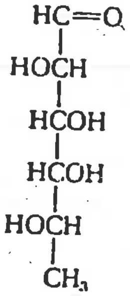



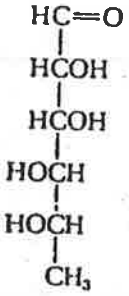
D- كلوكو أمين   D- كالاكتوز أمين

سكريات دي‌اوكسي
Deoxy Sugars

إن أكثر سكريات دي‌اوكسي إنتشاراً في الطبيعة ، هو سكر 2- دي‌اوكسي D- ريبوز 2- deoxy- D- ribose ، وهو السكر الذي يدخل في تركيب الحامض النووي ، حامض أوكسي ريبو نيوكليك DNA (الفصل الثامن). كما يعتبر كلاً من سكر L- رامنوز L- rhamnose (6- deoxy-L- mannose) و L- فيوكوز (6- deoxy- L- galactose) L- fucose من المكونات الرئيسية للجدران الخلوية في بعض أنواع البكتريا:

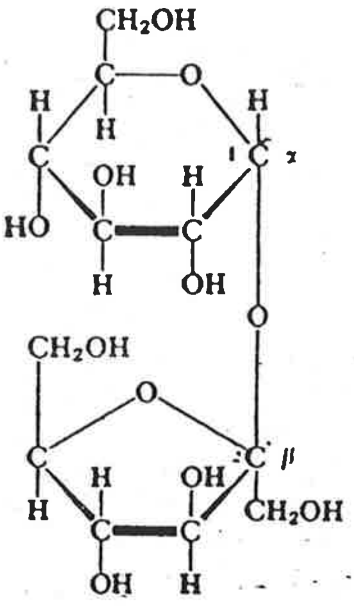

2-Deoxy-D-ribose
2- دي اوكسي – D ريبوز


L-Fucose
L- فيوكوز ،


L-Rhamnose
L- رامنوز

II السكريات قليلة الوحدات
Oligosaccharides

وهي السكريات التي تنتج من اتحاد عدد من وحدات السكر الأحادي (2-10 وحدة) مع بعضها البعض بواسطة الأواصر الكلايكوسيدية (انظر شكل 3-17). وبهذا فإن السكريات قليلة الوحدات يمكن تقسيمها حسب ماتحتويه من وحدات بنائية الى سكريات ثنائية وثلاثية ورباعية وهكذا...



شكل (17-3) تركيب السكروز
α -D-كلوكوبايرانوسايل (1 ⟵ 2) -β-D- فركتوفورزانوسيد (سكروز)

السكريات الثنائية Disaccharides

تتألف السكريات الثنائية من وحدتي سكر أحادي مرتبطة بواسطة آصرة كلايكوسيدية (شكل 17-3). ويوجد صنفان من الأواصر الكلايكوسيدية α و β. وتحمل الآصرة الكلايكوسيدية رقمي ذرتي الكاربون التي تربط بينها. وتختزل السكريات الثنائية محلول بينيديكت اذا كانت تملك مجموعة الديهايد أو كيتون حرة أي غير مقيدة بالآصرة الكلايكوسيدية التي تربط بين وحدتي السكر. ومن السكريات الثنائية الشائعة :

سكروز Sucrose

يدعى السكروز عادة بسكر القصب وهو موجود في جميع النباتات ويكثر وجوده في البنجر وقصب السكر. ويتألف من وحدتي الكلوكوز والفركتوز. حيث تربط الآصرة الكلايكوسيدية بين ذرة الكاربون - α الأنوميرية للكلوكوز وبين ذرة الكاربون β الأنوميرية 2 للفركتوز (شكل 17-3). وحيث أن ذرتي الكاربون الأنوميريتين ليس لها مجموعة هيدروكسيل حرة (أي بمعنى أن مجموعتي C=O الإختزاليتين قد تقيدنا بسبب تكوين الآصرة الكلايكوسيدية) لذا فإن السكروز لايملك قابلية اختزال وليس له أيضاً ظاهرة تحول الدوران. ويتخمر السكروز الى كحول وثاني اوكسيد الكاربون بفعل أنزيمي السكريس Sucrase والزايميس Zymase الموجودين في الخميرة. حيث يعمل الأول على

تحلل السكروز الى كلوكوز وفركتوز بينما يعمل الثاني على تخمر هاتين الوحدتين من السكر لينتج كحول وثاني اوكسيد الكاربون (انظر الفصل 11). والاسم النظامي للسكروز هو -

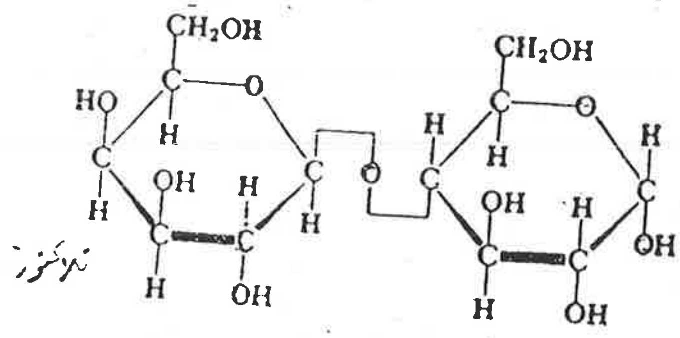
α-D كلوكوبايرانوسايل (1 ⟵ 2)-β-D- فركتوفورانوسيد

α -D- Glucopyranosyl-β- (1 ⟶ 2) fructofuranoside

Lactose

لاكتوز

يوجد اللاكتوز في الحليب ويتألف من وحدتي السكر β- كالاكتوز و α كلوكوز ترتبطان بآصرة كلايكوسيدية β — 1 ← 4 (شكل 3-18).



شكل (3-18) تركيب اللاكتوز

β-D- كالاكتوبايرانوسايل (1 ← 4) - α - D - كلوكوبايرانوسيد

ويتكون اللاكتوز في الغدد اللبنية الموجودة في الحيوان وذلك باستخدام الكلوكوز الموجود في الدم. يختزل اللاكتوز محلول بينيديكت وذلك لإحتوائه على مجموعة الديهايد كامنة (ألـ HO المتصلة بذرة الكاربون الأنوميرية رقم 1. الموجودة في وحدة الكلوكوز). لا يتخمر اللاكتوز بواسطة الخميرة. والاسم النظامي للاكتوز هو β-D- كالاكتوبايرانوسايل (1⟵ 4) - α-D- كلوكوبايرانوسيد

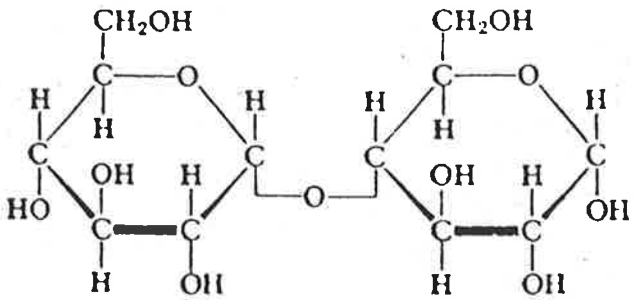
β -D- Galactopyranosyl- (1⟶ 4) α -D- glucopyranoside.

Maltose

مالتوز

يوجد المالتوز في الحبوب عند بداية إنباتها ويطلق عليه أحياناً بسكر الشعير وذلك لكونه ينتج من تحلل النشا بتأثير أنزيمات موجودة في الشعير. وينتج المالتوز أيضاً في جسم الحيوان من تحلل النشا بفعل انزيم الامايليس amylase. ويتكون المالتوز من وحدتي كلوكوز مرتبطتين معاً بالآصرة الكلايكوسيدية α - 1 ← 4 (شكل 3-19). والاسم النظامي للمالتوز هو α-D- كلوكوبايرانوسايل-(1 ⟵ 4) α-D- كلوكوبايرانوسيد.

α -D- Glucopyranosyl - (1 ⟶ 4) - α - D- glucopyranoside.



شكل (3-19) تركيب المالتوز

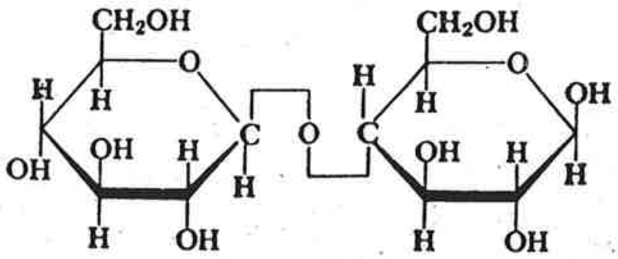
α -D- كلوكوبايرانوسايل (1 ← 4) α -D- كلوكوبايرانوسيد (مالتوز، بشكل -α)

وهناك تركيب مماثل للمالتوز يدعى ايزومالتوز ويختلف هذا باحتوائه على الآصرة الكلايكوسيدية α - 1 ← 6 التي هي في الأصل من أواصر α - 1 ← 6 الموجودة في النشأ والكلايكوجين. ويختزل المالتوز محلول بينيديكت، كما أنه يتخمر بوساطة الخميرة.

سيلوبايوز Cellobiose

يعد السيلوبايوز وحدة السكر الثنائي المتكررة في تركيب السيليولوز. والسيلوبايوز مشابه للمالتوز حيث يتألف من وحدتي كلوكوز غير أن كلتيهما β وترتبطان بالآصرة الكلايكوسيدية β 1 ← 4 (شكل 3-20). والاسم النظامي للسيلوبايوز هو β-D- كلوكوبايرانوسايل (1 ← 4) -β -D- كلوكوبايرانوسيد.

β-D- Glucopyranosyl- (1⟶ 4) -β-D- glucopyranoside.



شكل (3-20) تركيب سيلوبايوز

β-D- كلوكوبايرانوسايل -(1——4) -β-D- كلوكوبايرانوسيد

تريهالوز Trehalose

سكر ثنائي موجود في الفطريات والخمائر ويعتبر السكر الرئيسي للمف الدموي hemolynph في الحشرات. ويتكون تريهالوز من وحدتي α -D- كلوكوز المرتبطتين معاً بالآصرة الكلايكوسيبية α 1 ← 1.

Trisaccharides

السكريات الثلاثية

يوجد العديد من السكريات الثلاثية بصورة حرة في الطبيعة. فسكر الرافينوز Raffinose [O-α-D- galactopyranosyl- (1⟶ 6)- O-α-D- glucopyranosyl- (1⟶ 2)-β-D- fructofuranoside]

موجود بكثرة في البنجر وفي كثير من النباتات الراقية وهو سكر غير مختزل. وسكر ميليزيتوز أو Melezitose

[O-α-D-glucopyranosyl-(1⟶ 3)-O-β-D-fructofuranosyl(2⟶ 1)-α-D-glucopyranoside]

سكر ثلاثي أيضاً موجود في تسغ بعض الأشجار.

Polysaccharides (Glycans)

III متعدد السكريات

توجد أغلب الكاربوهيدرات في الطبيعة بصيغة جزيئات متعدد سكريات ذات أوزان جزيئية عالية. وجزيئات متعدد السكريات تختلف عن بعض بنوع وحدات السكر الأحادي المكونة لها وبطول سلاسلها وكذلك بطبيعة التفرع لهذه السلاسل.

ليس للغالبية من مركبات متعدد السكريات قابلية اختزال بالرغم من احتوائها على وحدة سكر نهائية تملك مجموعة C=O كامنة غير مقيدة بآصرة كلايكوسيدية، وذلك لأن تأثير هذه الوحدة الواحدة من السكر المختزل تتضاءل خاصيتها هذه بسبب الوزن والحجم الكبيرين لجزيء متعدد السكر.

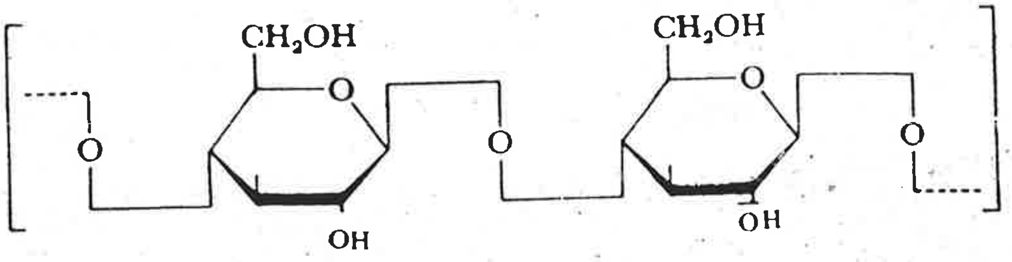
غالباً ماتعطى السكريات المتعددة المتجانسة اسماء تحدد صنفها وتدل على طبيعة وحداتها البنائية. فمثلاً يطلق على النشا والكلايكوجين اسم كلوكان glucans او كلوكوسان glucosan، لأنه يتكون من وحدات الكلوكوز فقط. ويطلق على متعدد سكر آخر اسم مانان mannans للدلالة على انه يتكون من وحدات مانوز فقط.

وهناك نوعان من مركبات متعدد السكريات، متعدد السكريات المتجانسة homopolysaccharides، حيث تحتوي جزيئاته على نوع واحد من وحدات السكر الاحادي المتكررة، مثل السيليلوز، النشا، الكلايكوجين، الإينولين والكايتين. ومتعدد السكريات غير المتجانسة heteropolysaccharides، حيث تحتوي جزيئاته على نوعين أو اكثر من وحدات السكر المتكررة، مثل السكريات المخاطية والبكتين pectins.

سيليولوز

Cellulose

يعد السيليولوز المادة الأساسية المكونة للنبات ، فهو يكون على الاقل 50% من تركيب جدار الخلية النباتية. أما شعيرات القطن فتحتوي على 90-98% سيليولوز. ويتألف السيليولوز من سلسلة مستقيمة من وحدات الكلوكوز المرتبطة مع بعض بالأواصر الكلايكوسيدية β-1 ⟵ 4 (شكل 3-21) . ويتراوح الوزن الجزيئي للسيليولوز في الأنواع المختلفة من النباتات من 50,000-2,500,000 أي ما يكافىء 300-15,000 من وحدات الكلوكوز المكونة. وترتبط سلاسل السيليلوز مع بعض بواسطة اواصر هيدروجينية مستعرضة.



شكل (3-21) تركيب السيليولوز

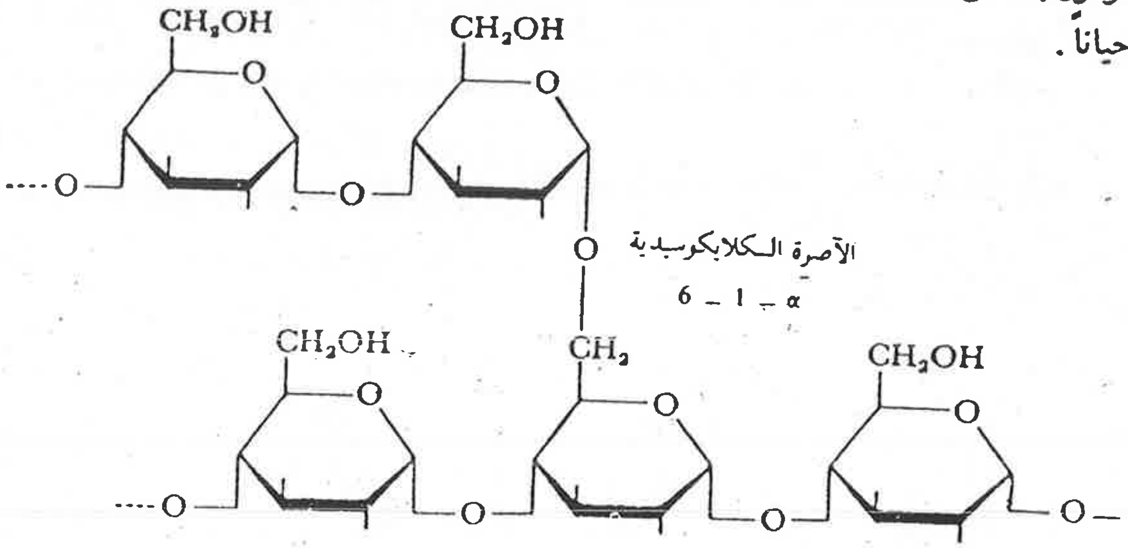
هناك نوع خاص من البكتريا تمتلك انزيم سيليوليس Cellulase التي تعمل على شطر الأواصر الكلايكوسيدية β-1 ⟵ 4 لينتج مالتوز وكلوكوز. وتعتمد الحيوانات المجترة في هظم السيليولوز على هذه البكتريا الموجودة في جهازها الهظمي. وتحتوي الحشرات المختلفة والقواقع والفطريات والطحالب والعث على انزيم سيليوليس ، وهذا يفسر أكل العث قطع الملابس القطنية وتلف الاخشاب المصابة بالعفن.

نشا

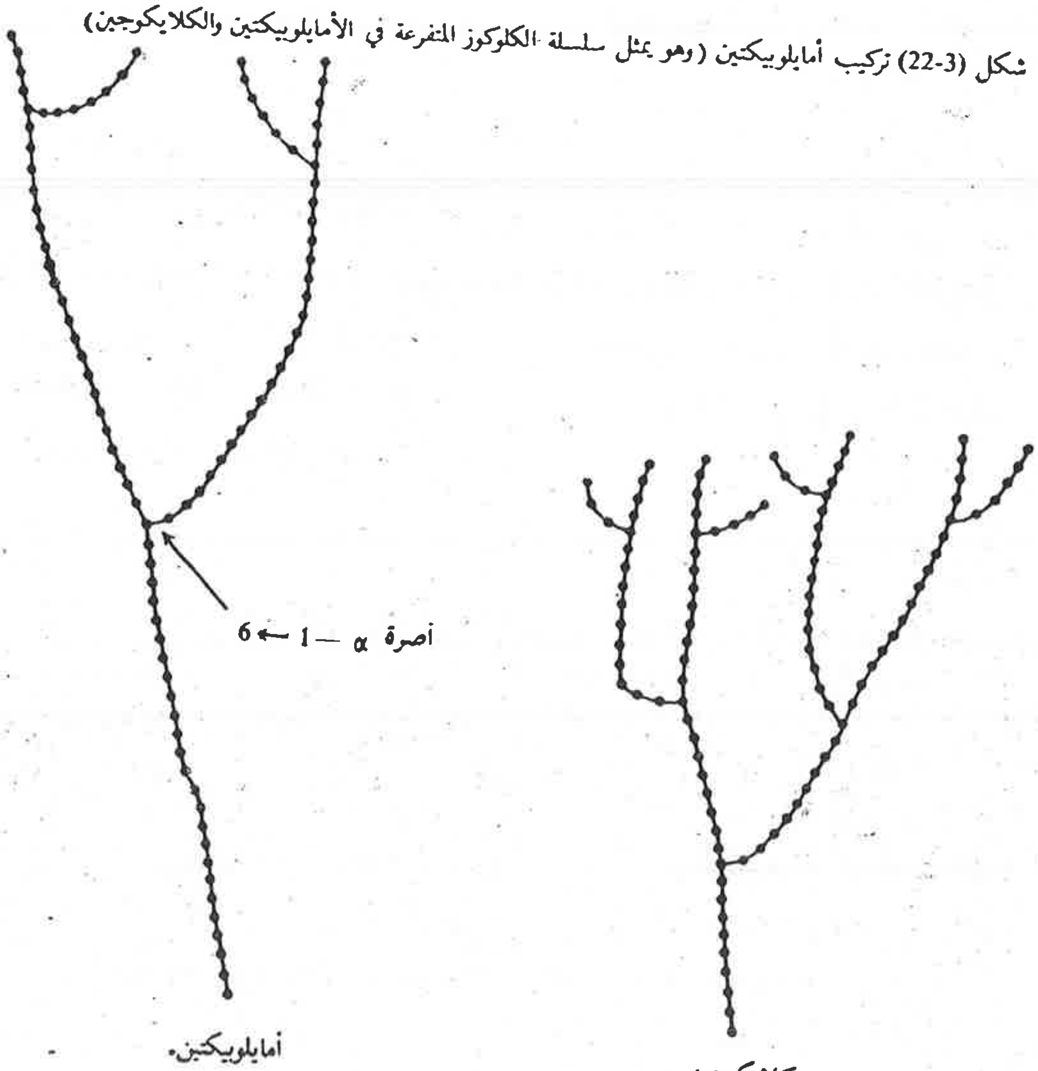
Starch

يعد النشا متعدد السكر خازناً للطاقة في النبات كما أنه مصدر غذائي مهم. ويتألف النشا من نوعين من سلاسل متعدد السكريات وهما أمايلوز amylose 15-20%. وأمايلوبكتين amylopectin 80-85%. الأمايلوز هو سلسلة طويلة غير متفرعة من وحدات الكلوكوز المرتبطة معاً عبر الأواصر α - 1 ⟵ 4 وتتواجد بشكل حلزوني ويتراوح الوزن الجزيئي للامايلوزين بضعة آلاف الى 50,000 . أما أمايلوبيكتين فهو سلسلة متفرعة تتألف من وحدات الكلوكوز التي ترتبط مع بعض عبر الأواصر α - 1 ⟵ 4 و α-1 ⟵ 6 ويكون التفرع في سلسلة امايلوبكتين عبر الأواصر α - 1 ⟵ 6 ويتراوح عدد وحدات

الكلوكوز لكل تفرع بـ 12 وحدة كما يحدث التفرع كذلك عند حوالي كل 24-30 وحدة كلوكوز (شكل 3-23 و 3-22) . ويتراوح الوزن الجزيئي للأمايلوبيكتين من مئة الى مليون أحياناً .



شكل (3-22) تركيب أمايلوبيكتين (وهو يمثل سلسلة الكلوكوز المتفرعة في الأمايلوبيكتين والكلايكوجين)



شكل (3-23) السلاسل المتفرعة للكلايكوجين والأمايلوبيكتين

يتحلل النشا بتأثير الأنزيمات مثل أمايليس amylase أو بتأثير الأحماض ، الى مجموعة من سلاسل الكلوكوز القصيرة اولاً ثم الى وحدات كلوكوز حرة . وان التفاعل المميز للنشا هو تكوينه مركباً ذا لون أزرق عند معاملته مع محلول اليود . وغالباً مايستعمل هذا الكشف لمتابعة عملية تحلل النشا .

كلايكوجين Glycogen

يعد الكلايكوجين متعدد السكر. خازناً للكلوكوز وبالتالي فهو مخزن الطاقة في جسم الحيوان ، وهو موجود في الكبد والعضلات . وتركيب جزيء الكلايكوجين مشابه للأمايلوبيكتين (انظر شكل 3-22 ، 3-23) من حيث امتلاكه سلاسل كلوكوز α - 1 ← 4 متفرعة بوساطة الأواصر α - 1 ← 6. غير أن سلاسل الكلايكوجين أكثر تفرعاً . وتحدث التفرعات في السلاسل غالباً عند كل 8 الى 12 وحدة كلوكوز (شكل 3-23) وتبلغ الكتلة الجزيئية للكلايكوجين 10^7 دالتون . وتتحلل الأواصر α - 1 ← 4 للكلايكوجين كغيرها من متعدد السكريات بواسطة أنزيم α- امايليس الناتج من الغدد اللعابية والبنكرياس . بينما تتحلل الأواصر α - 1 ← 6 بوساطة الأنزيم مزيل التفرع debranching enzyme والذي يدعى أمايلو-1 ←6-كلوكوسيديس Amylo- 1 ⟶ 6 - glucosidase وهكذا بالفعل المتبادل هذين الأنزيمين يكون الناتج النهائي للتحلل مزيجاً من المالتوز والكلوكوز. ويكون الوزن الجزيئي للكلايكوجين عالياً وغالباً مايزيد على 5,000,000 . ويعطي الكلايكوجين مع محلول اليود لوناً احمراً - بنفسجياً .

ديكسترينس Dextrins

توجد مركبات الديكسترين في البذور النامية للحبوب . غير أنها تنتج أيضاً بوساطة التحلل الجزئي لمتعدد السكر (النشا والكلايكوجين) وغالباً ماتستعمل مركبات الدكسترين مواد لاصقة . وتعطي مركبات امايلوديكسترينس amylodextrins لوناً أزرقاً مع محلول اليود بينما تعطي ايرايثروديكسترينس erythrodextrins لوناً احمراً .

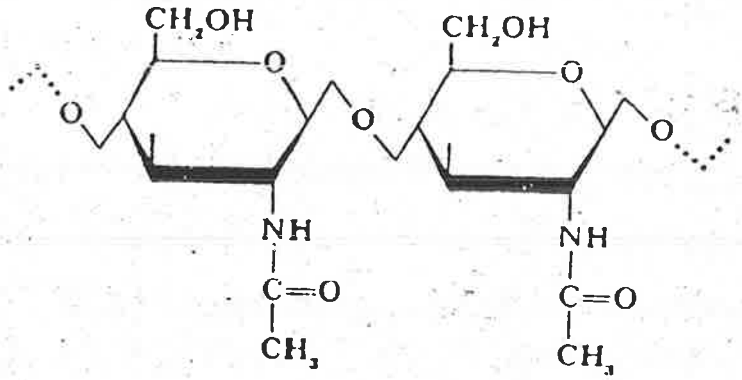
إنيولين Inulin

الانيولين متعدد سكر يتألف من وحدات D- فركتوز المرتبطة مع بعض عبر الأواصر الكلايكوسيدية β- 1 ⟵ 2 ، ويمكن ان يطلق عليه فركتوسان fructosan وهو من السكريات المتعددة الخازنة للطاقة ، ويذوب في الماء الدافىء ، ولهذا يستخدم فسلجياً في تحديد سرعة الترشيح في الكلية . ويوجد الإنيولين في نبات الخرشوف artichoke .

Chitin

كايتين

الكايتين هو متعدد سكر يحتوي على وحدات متكررة من سكر N- أسيتايل -D- كلوكوز أمين N-acetyl-D-glucosamine مرتبطة معاً عبر الأواصر β- 1 ⟵ 4 الكلايكوسيدية (شكل 3-24). وتعد الهياكل الخارجية للحشرات مكونة من مادة الكايتين ذات القوام الصلب لحماية الحشرات من المؤثرات الخارجية.



شكل (3-24) جزء من جزيئة الكايتين

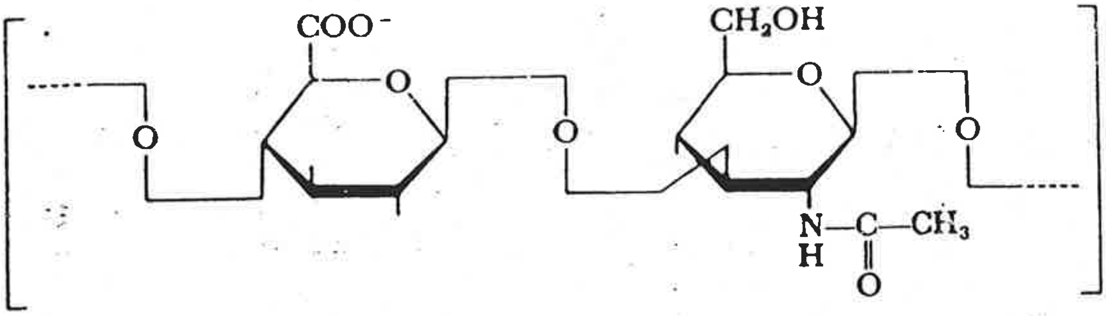
Dextrans

ديكسترانس

الديكسترانس dextrans مركبات لمتعدد سكر متفرع، يتكون من وحدات α-D- كلوكوز فقط. إلاّ انه يختلف عن النشا والكلايكوجين في كون الأواصر الكلايكوسيدية الرئيسة التي تؤلف العمود الفقري للسلاسل ليست α- 1 ⟵ 4. ويعد متعدد سكر الديكستران خازناً للكلوكوز. ويوجد في الخمائر والبكتريا. وتختلف مواقع التشعب في الديكستران تبعاً لمصدر الكائن الحي الذي اخذت منه. فقد تكون هذه؛ 1 ⟵ 2، 1 ⟵ 3 1 ⟵ 4، 1 ⟵ 6. تكون محاليل الديكستران على درجة عالية من اللزوجة وتكون نزقة (دبقة) Slimy. ومتعدد السكر ديكستران التي تكون فيه الأواصر الكلايكوسيدية من نوع α- 1 ⟵ 6، يستخدم للعلاج كعامل للاحلال يحل بلازما الدم. ويتراوح الوزن الجزيئي للديكسترانس 50000-10000000.

يختلف متعدد السكريات المخاطية عن النشا والكلايكوجين بكونه يتألف من بوليمرات تحوي أكثر من نوع واحد من وحدات كاربوهيدراتية. فهو قد يحتوي على سكريات ذات مجموعة أمين أو سلفات (كبريتات) او N- اسيتايل. ولمركبات متعدد السكريات المخاطية وظائف تركيبية كما هو الحال من وجودها في الأنسجة الرابطة.

وهناك مركبات متعدد السكريات المخاطية الحامضية والتي تحتوي على أحماض سكرية، مثل حامض هيالورونيك hyaluronic acid الذي يتألف من وحدتي سكر متكررة، هما وحدة حامض كلوكورونيك glucuronic acid المرتبطة مع وحدة N- اسيتايل كلوكوز أمين N- acetylglucose amine عبر الآصرة β- 1 ⟵ 3 (شكل 3-25).

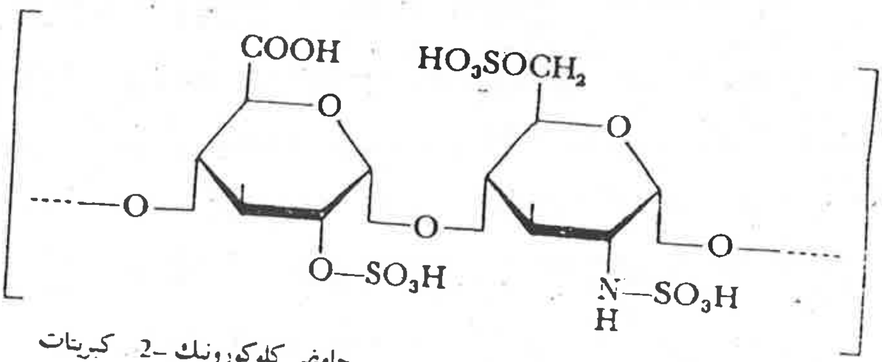


حامض كلوكورونيك   N- اسيتيل كلوكوزأمين

شكل (3-25) وحدتي السكر المتكررة في تركيب جزيء حامض هيالورونيك

ويكون حامض هيالورونيك ذا لزوجة عالية بسبب وزنه الجزيئي العالي والذي يقدر بالملايين، ويعمل كمادة لصاق (اسمنت) مابين الخلايا في الأنسجة الرابطة.

هيبارين Heparin هو متعدد سكر مخاطي حامضي ايضاً ويحوي مجموعات كبريتات. ويوجد عادة في معظم الخلايا ويعمل مادة مضادة لتخثر الدم. ويتألف من وحدتي سكر متكررة، هما حامض كلوكورونيك -2- كبريتات glucuronic acid -2- sulphate وكلوكوز أمين -6- كبريتات -N-2- كبريتات glucose amine -6- sulphate -2-N- sulphate، المرتبطتين عبر الآصرة α- 1 ⟵ 4 (شكل 3-26).



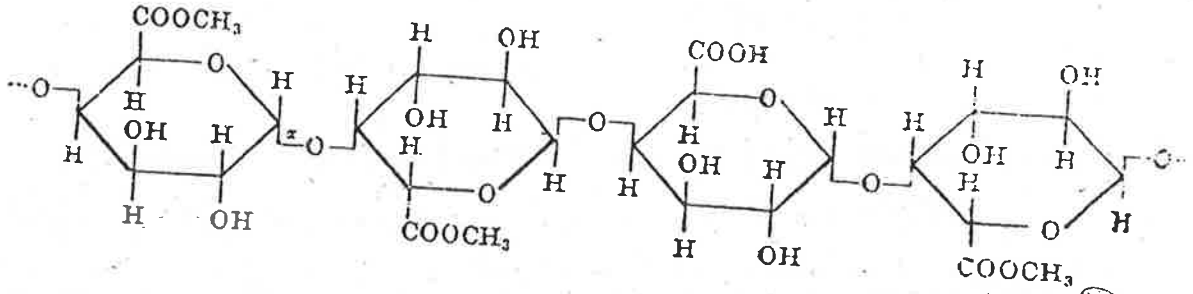
حامض كلوكورونيك -2- كبريتات   كلوكوز أمين -N -2- كبريتات -6- كبريتات

شكل (26-3) وحدتا السكر المتكررة في تركيب جزيء الهيبارين

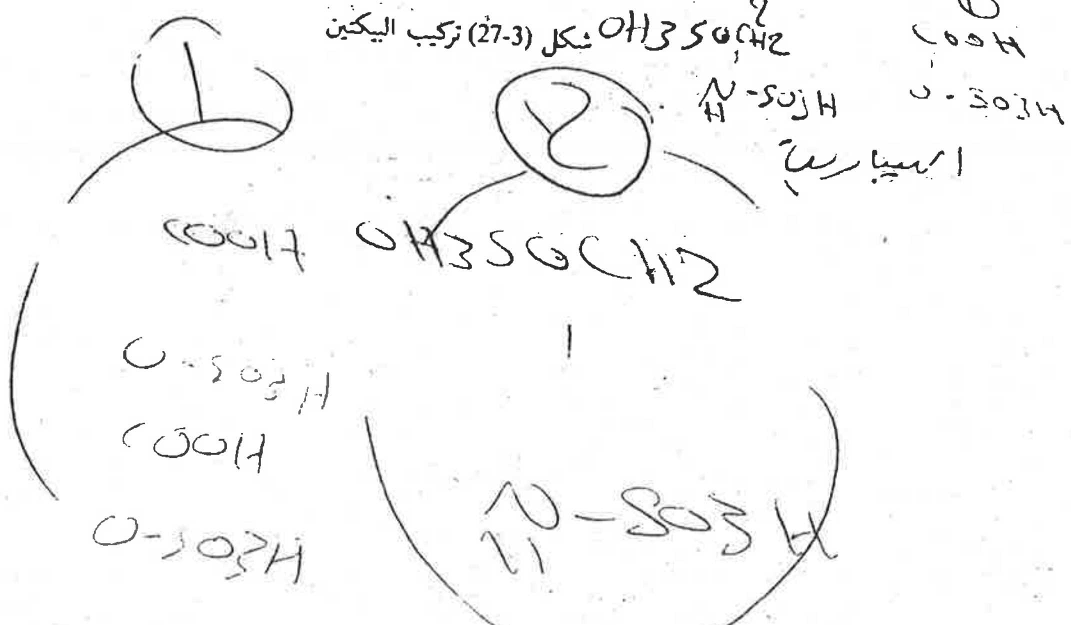
Pectin

بيكتين

إن البيكتين Pectin (حامض بيكتيك Pectic acid) هو متعدد سكر غير متجانس، يتواجد مع السيليلوز. ويتألف من وحدات حامض مثيل D-كالاكتويورونك (methyl D- galacturonic acid)- α و حامض كالاكتويورونك.(1 ← 4) ويعمل كدعامة تركيبية للنبات. شكل (3 – 27)

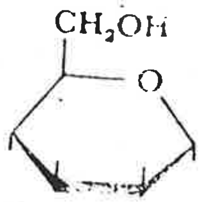


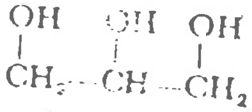
شكل (27-3) تركيب البيكتين



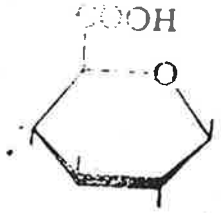
تمرينات الفصل الثالث

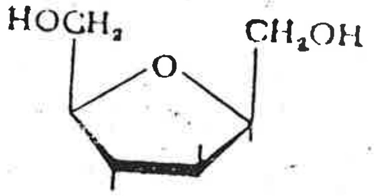
-1 بيّن أياً من التراكيب الآتية تمثل مركبات كربوهيدرات. وصنف كلاً منها حسب عدد ذرات الكربون الموجودة فيها. ثم عين أياً منها الدوز أو كيتوز، بايرانوز أو فيورانوز، متماثل α أو β ؟.

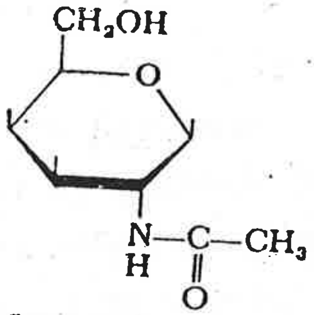
أ 

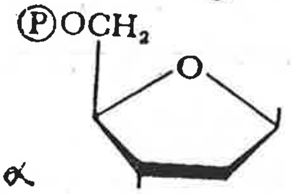
ب 

ج

د 

هـ 

و 



-2 ماهو الاختلاف الأساسي في تركيب كل من النشا والسيليولوز؟.

الفصل الرابع

الليبيدات (الدهون) Lipids

الليبيدات هي الصنف الآخر للجزيئات الحياتية الكبيرة. وتؤلف الليبيدات حوالي 5% من المواد العضوية الداخلة في تركيب الخلية الحية. وهناك حوالي 40 — 50 نوعاً من الجزيئات الليبيدية في الخلية. وتكون خلايا الدماغ والانسجة العصبية خاصة غنية بمركبات الليبيد المعقدة. والليبيدات هي مركبات ذات طبيعة دهنية تذوب في المذيبات غير المستقطبة مثل الايثر والبنزين. وقد تحتوي بعض الليبيدات على مجموعات متأينة (مثل الفوسفات او كولين) غير ان الجزء الاكبر من جزيء الليبيد يكون غير مستقطب (أنظر شكل 4— 6 ،4— 7). اما من الناحية التركيبية، فالليبيدات تضم مجموعة مختلفة من المركبات. وتتكون وحدات البناء الاساسية لليبيدات غالباً من الاحماض الدهنية، كليسيرول، سفينجوسين، ومركبات ستيرول.

وظائف الدهون الرئيسة

تؤدي الدهون وظائف حياتية مهمة يمكن إجمالها بما يأتي:

تعد الدهون مصدراً كبيراً للطاقة في الحيوانات وكذلك في البذور الحاوية على نسبة عالية من الدهون. حيث انه عند اكسدة غرام واحد من الدهن تتولد طاقة تقدر ب ٩ كيلو سعرة بينما في اكسدة غرام واحد من الكاربوهيدرات ينتج 4 كيلو سعرة، في حين تتولد طاقة من اكسدة غرام واحد من البروتينات 5.5 كيلو سعرة. وتخزن الدهون في الانسجة الدهنية كخزين للطاقة عند الحاجة، وبصورة مركزة، ولايشترك معها الماء، مقارنة بالكاربوهيدرات (الكلايكوجين) الحاوية على كمية عالية من الماء عند خزنها. وتعمل الدهون المسماة بالبروتينات الدهنية lipoproteines، كعناصر تركيبية لاغشية الخلايا وعضياتها، وكذلك تتوظف في نقل الدهون في الدم. كما تعمل الدهون مواداً واقية على سطح كثير من الكائنات الحية. وتعمل الدهون كعازل حراري في الحيوان والانسان. كما تدخل الدهون في تركيب الأنسجة العصبية بنسبة عالية. وتعمل الدهون كعازل كهربائي

يسمح لنقل الايعاز العصبي عبر الاعصاب. كما تعمل الدهون، كمركبات اولية precursors لبعض الفيتامينات، الهورمونات واحماض الصفراء.

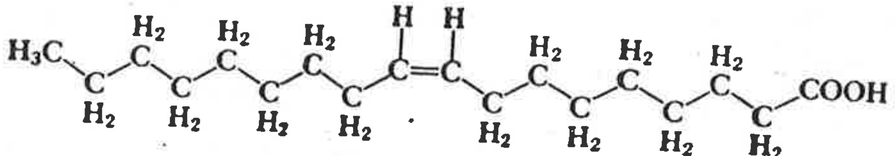
أصناف الليبيدات

1. الليبيدات المتعادلة Neutral lipids (الكليسيريدات) وهي مركبات استر لاحماض دهنية مع كليسيرول.
2. الكليسيريدات الفوسفاتية Phospholipids (ليبيدات فوسفاتية): وهي مركبات استر فوسفات لكليسيريدات ثنائية وقد يحتوي كل منها اضافة الى ذلك مركب نتروجيني.
3. الليبيدات الاسفنجية Sphingolipids. سميت كذلك لانها تحوي على المركب سفينجوسين Sphingosine (4 – سفينجين 4 – Sphingen) كما تحوي بالاضافة الى ذلك على حامض دهني. وقد تحتوي ايضاً على مجموعة فوسفات وعلى مركب نتروجيني آخر.
4. الليبيدات السكرية Glycolipids. وهي مركبات تحتوي على حامض دهني، كحول وسكر.
5. الليبيدات البروتينية Lipoproteins وهي مركبات تحتوي على دهون وبروتينات.
6. الشموع Waxes. وهي مركبات استر لأحماض دهنية وكحولات احادية الهيدروكسيل.
7. مركبات الستيرويد Steroids. وهي مشتقات لمركبات كحول حلقية.
8. مركبات التيربين Terpens. وهي مشتقات لبوليمرات مكونة من وحدات ايزوبرين isoprene مكثفة.

الاحماض الدهنية Fatty acids

تعد الاحماض الدهنية مشتقات لليبيد وذلك لأنها تدخل في تكوين الانواع المختلفة لليبيدات. وتحتوي جزيئات الاحماض الدهنية الموجودة في الطبيعة على عدد زوجي من ذرات الكاربون وهي عادة احماض كاربوكسيلية ذات سلسلة هيدروكربونية مستقيمة مشبعة او غير مشبعة ويبين الجدول (4–1) بعض انواع الاحماض الدهنية المهمة ووجودها. ويعد حامضاً بالمتيك Palmitic acid (C_{16}) وستيريك Stearic acid (C_{18}) من اهم الاحماض الدهنية المشبعة وذلك لكونهما يدخلان في تركيب اغلب الدهون

الحيوانية والنباتية . اما الاحماض الدهنية غير المشبعة فهي المكونات المميزة للزيوت . ويعد حامض اوليك (C_{18}) Oleic acid الذي يحوي آصرة مزدوجة واحدة من الأنواع الشائعة. كما توجد احماض دهنية متعددة الاواصر المزدوجة وهذه تشمل حامض لينوليك (C_{18}) Linoleic acid وحامض لينولينيك (C_{18}) Linolenic acid وكذلك حامض اراكيدونيك Arachidonic acid . وهذه تحوي اثنين. ثلاثة واربعة من الاواصر المزدوجة على التالي. وهذه الاحماض الدهنية الثلاثة تعتبر اساسية -حيث ان الجسم لايستطيع تكوينها ويجب ان تتوفر في الغذاء وتكون الاواصر المزدوجة لجميع الاحماض الدهنية غير المشبعة بالشكل الهندسي سيس cis (جانبي المجموعات). وتشير التحليلات بواسطة أشعة X الى ان الشكل التركيبي للاحماض الدهنية يكون متعرجاً (بشكل زكزاك) وان الآواصر C – C تكون بشكل زوايا قيمة كل منها 109° (شكل (4 – 1).

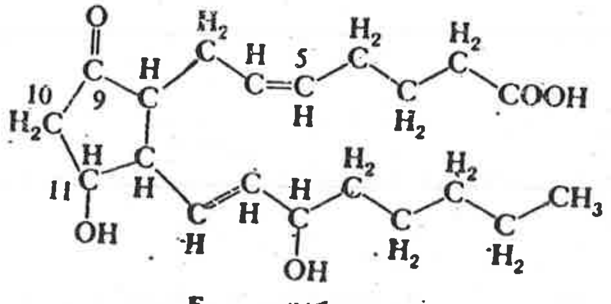


Oleic acid (*cis*-form)

حامض اوليك (بشكل سيس)

شكل (4 – 1) تركيب حامض اوليك

وتكون الاحماض الدهنية المتعددة الاواصر المزدوجة مثل حامض اراكيدونك ، جدول (4 – 1) مركبات حياتية وسطية للاحماض الدهنية الحلقية التي تعرف بمركبات بروستا كلاندين prostaglandins والتي تعمل كمنظات اوكهورمونات موضعية لعمليات ايضية في كثير من الانسجة (الفصل 15 شكل 15 – 5). وتحوي جميع مركبات بروستا كلاندين على 20 ذرة كاربون بضمنها حلقة خماسية (شكل 4 – 2).



بروستاكلاندين E_2

شكل (4 – 2) تركيب بروستا كلاندين ويشير الحرف E الى طبيعة او مواقع مجموعات الهيدروكسيل والكيتون على الحلقة كما يشير العدد 2 الى وجود آصرتين مزدوجة في المركب.

جدول 4-1 بعض الاحماض الدهنية المهمة الموجودة في الطبيعة

الاسم	الصيغة الكيمياوية	موقع الاواصر المزدوجة	وجوده
احماض دهنية مشبعة:			
حامض بيوتيريك	C_3H_7COOH		الزبدة
حامض كابرويك	$C_5H_{11}COOH$		الزبده
حامض كابريليك	$C_7H_{15}COOH$		زيت جوز الهند
حامض كاربريك	$C_9H_{19}COOH$		زيت نوى النخيل
حامض لايوريك	$C_{11}H_{23}COOH$		زيت جوز الهند
حامض مايريستيك	$C_{13}H_{27}COOH$		زيت البندق
حامض بالمتيك	$C_{15}H_{31}COOH$		الدهون النباتية والحيوانية
حامض ستيريك	$C_{17}H_{35}COOH$		الدهون النباتية والحيوانية
حامض اراكيديك	$C_{19}H_{39}COOH$		زيت الفول السوداني
احماض دهنية غير مشبعة:			
احماض بالميتاوليك	$C_{15}H_{29}COOH$	$\Delta 9$ *	الزبدة
حامض اوليك	$C_{17}H_{33}COOH$	$\Delta 9$	زيت الزيتون
حامض لينوليك اساسي	$C_{17}H_{31}COOH$	$\Delta 12.9$	زيت بذر الكتان
حامض لينولينيك اساسي	$C_{17}H_{29}COOH$	$\Delta 15.12.9$	زيت بذر الكتان
حامض اراكيدونيك اساسي	$C_{19}H_{37}COOH$	14, 11, 8, 5	الليسيثين

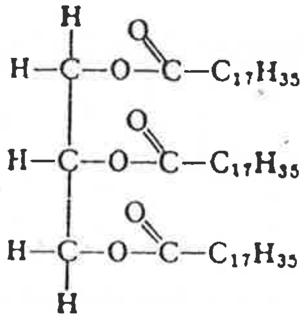
* $\Delta 9$ تشير الى ان موقع الاصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 10,9

$\Delta 12$ تشير الى ان موقع الاصرة المزدوجة بين ذرتي الكربون 13,12 وهكذا.

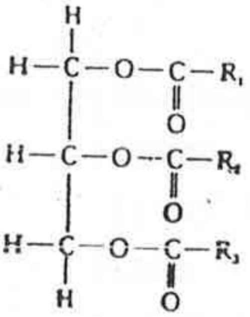
1- الليبيدات (الدهون) المتعادلة Neutral lipids

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

ستيريك ، فان ذلك الدهن يدعى بثلاثي ستيرين tristearin اما اذا كانت من نوع حامض بالمتيك ، فان ذلك الدهن يدعى ثلاثي بالمتين tripalmitin وهكذا فان تسمية هذه الدهون تعتمد على محتوياتها من الاحماض الدهنية (شكل 4 – 3).



ثلاثي ستيرين



الصيغة التركيبية العامة للدهون المتعادلة (البسيطة) ثلاثي كليسيريد

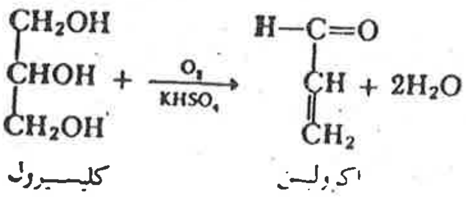
شكل (4 – 3) امثلة لتركيب الدهون المتعادلة

وتشمل الدهون المتعادلة على الشحوم والزيوت والتي تتواجد مخزونة في الحيوان داخل الأنسجة الدهنية adipose tissue والنبات (جدول 4 – 1). وعلى الاغلب فان الشحوم تكون صلبة في درجة حرارة الغرفة وذلك بسبب احتوائها على نسبة عالية من الاحماض الدهنية المشبعة. بينما تكون الزيوت بشكل سائل وذلك بسبب احتوائها على نسبة عالية من الاحماض الدهنية غير المشبعة.

التفاعلات المهمة للدهون المتعادلة

كشف اكرولين Acrolin test

يتفاعل الدهن المتعادل بسبب احتوائه على الكليسيرول مع $KHSO_4$ ليعطي المركب اكرولين الذي له رائحة مخدشة مميزة وغالباً مايستعمل هذا التفاعل للكشف عن هذا النوع من الدهون (شكل 4 – 4).



شكل (4-4) كشف اكرولين

حمث أو زنخ Rancidity (الاكسدة الفوقية Peroxidation) الدهون

ينشأ حمث اوزنخ الدهن (التأكسد التلقائي الذاتي) للدهن بوجود الاوكسجين عندما يعرض الدهن للهواء وفي درجة حرارة الغرفة ، مما يؤدي الى تكون طعم ورائحة غير مقبولة للدهن. وهناك طريقتان مختلفان لحمث (زنخ) الدهن وهما طريقة التحلل وطريقة الاكسدة. فقد تتحلل الدهون نتيجة عمل انزيمات اوكائنات مجهرية لتنتج احماضاً دهنية ذات سلاسل هيدروكربونية قصيرة (مثل حامض بيوتبريك) التي لها رائحة كريهة كما هو الحال في حمث الزبدة. وقد تتأكسد الأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في الدهون حيث تتحول الاواصر المزدوجة الى بيروكسيد وبالتالي الى مركبات الديهايد اوكيتون او احماض طيارة لها روائح كريهة. ويساعد وجود الحرارة، الضوء وكذلك الرطوبة، على التعجيل من عملية الحمث بالاكسدة.

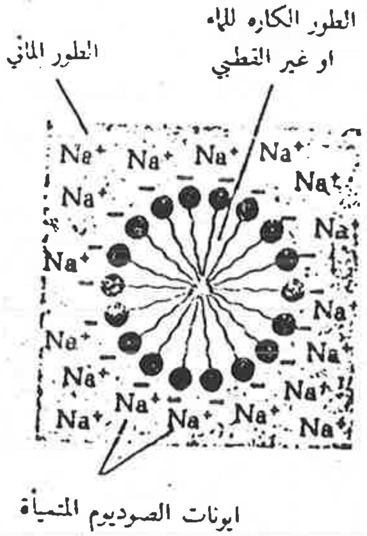
إن التأكسد الذاتي (الاكسدة الفوقية peroxidation) للدهون تؤدي الى تلف الانسجة داخل الجسم. وان التأثيرات الضارة تبتدأ initate بتكون الجذور الحرة مثل OH, RO, ROO خلال تكون البيروكسيدات من الاحماض الدهنية غير المشبعة. إن الأكسدة الفوقية للدهون هو تفاعل متواصل chain reaction ينتج الجذور الحرة اعلاه بصورة مستمرة. وهذه الجذور تحث بدورها، عملية الاكسدة الفوقية بشكل أبعد. وقد تضاف للدهون مواد طبيعية لمنع هذا التأكسد مثل فيتامين E (α - توكوفيرول ، α - tocopherol الفصل 7) الذي يعمل في اوساط دهنية، وهو يحمي الاغشية الخلوية خاصة من هذا التأكسد وفيتامين C (الفصل 7) الذي يعمل في الوسط المائي، وهو يخمد الجذور الحرة المتكونة في هذه الاكسدة. ويعتبر يوريت احادي الصوديوم mon-osodium urate ، فصل(14, 8) من المواد الطبيعية المضادة للأكسدة الفوقية للدهون، ايضاً، حيث يقتنص ايضاً الجذور الحرة المتولدة من تأكسد الدهون. وقد يسبب حمث الدهن مرض السرطان والتهابات مختلفة والشيخوخة.

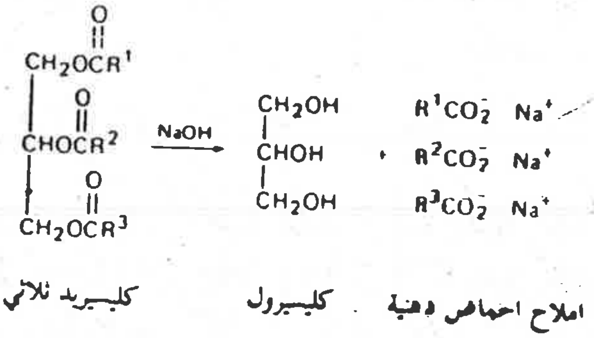
التصبن : Saponification

تتحلل الدهون بوساطة القواعد الى كليسيرول وأملاح الحامض الدهني، وتدعى هذه الاملاح بالصابون (شكل 4-5 أ) .

ان املاح الحامض الدهني هذه لها صفات الليبيدات المستقطبة (انظر شكل 4-7 4-6) حيث ان هذه الجزيئات المستقطبة تكون في الماء تجمعات تسمى مذيلات او ميسيلس micelles (الفصل الثاني). والمذيلات هذه عبارة عن دقائق بحجم الدقائق

الغروية تكون فيها المجاميع المستقطبة للجزيئات متجهة الى السطح (الخارج) في حين تكون السلاسل الهيدروكاربونية (المجاميع غير المستقطبة) متجهة نحو الداخل. وتكون دقائق المذيلات هذه في حالة توازن مع الجزيئات الحرة (الطليقة) المستقطبة. كما تكون هذه الدقائق متباعدة عن بعض بسبب تنافر الشحنات السالبة الموجودة على سطح كل من المذيلات. (شكل 4–5 (ب).





شكل (4–5) (أ) تصبن (تحلل مائي) لكليسيريد ثلاثي

شكل (4–5–ب) تكوين مذيلات الصابون في الماء

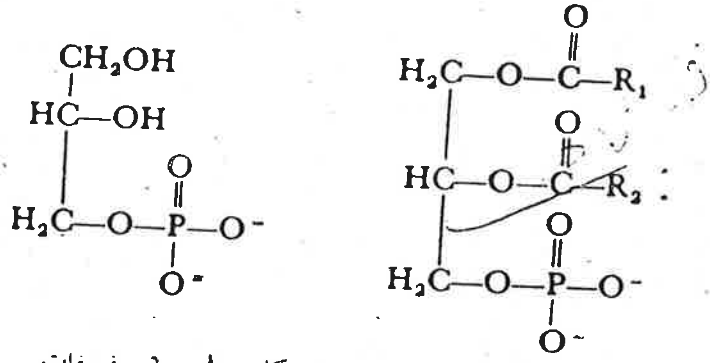
تدعى الدهون التي تنتج صابوناً (شكل 4–5 (أ)) بالدهون القابلة للتصبن وبهذا فان جميع اللبيدات التي تحوي في تركيبها احماضاً دهنية تكون قابلة للتصبن.

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

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

2- الكليسيريدات الفوسفاتية (الليبيدات الفوسفاتية) Phosphoglycerides

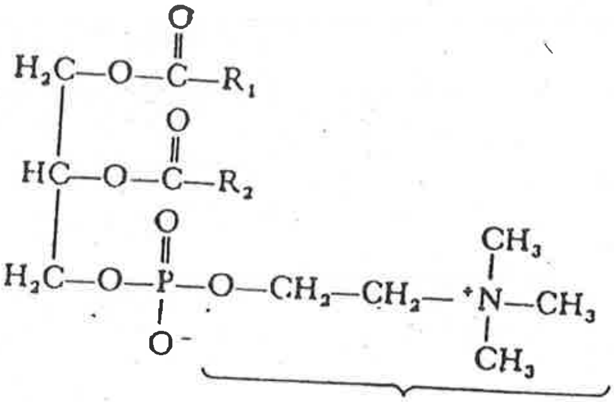
توجد الكليسيريدات الفوسفاتية phosphoglycerides في جميع الخلايا الحيوانية والنباتية.تدخل الدهون الفوسفاتية عموماً في تركيب الاغشية الخلوية وفي تركيب البروتين الدهني لبلازما الدم. وهي مركبات استرفوسفات لكليسيريدات ثنائية. ويعد المركب كليسيرول -3- فوسفات الوحدة التركيبية الاساسية للكليسيريدات المفسفرة. وتتأستر جزيئتان من الحامض الدهني مع كليسيرول — 3 — فوسفات لينتج احماضاً فوسفاتيدية phosphatidic acids والتي هي مركبات وسطية في تكوين ثلاثي كليسيرول وفي تكوين كليسيريدات فوسفاتية اخرى (شكل 4 — 6).



شكل (4 — 6) تركيب حامض فوسفاتيديك وكليسيرول فوسفات

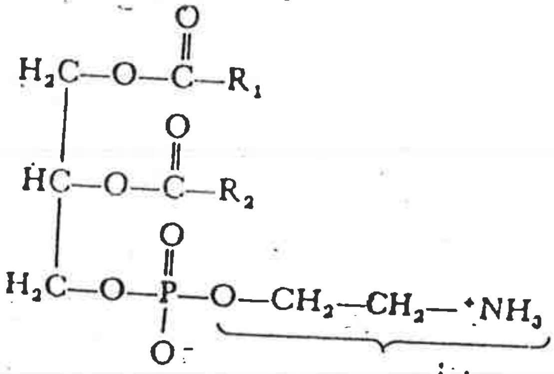
مركبات فوسفاتيدايل كولين (ليسيثين) Phosphatidyl cholines (Lecithins)

عند تأستر الكولين choline او ثلاثي مثيل ايثانول امين $HOCH_2CH_2N^+(CH_3)_3$ trimethyl ethanol amine مع طرف حامض الفوسفوريك للحامض فوسفاتيديك تنتج مركبات فوسفاتيدايل كولين phosphatidyl cholines وتدعى ايضا بمركبات ليسيثين Lecithins (شكل 4 — 7). وتلعب مركبات الليسيثين دوراً اساسياً في تقليل التوتر (الشد) السطحي لخلايا الحويصلات الهوائية في الرئة فهي تعمل كطبقة سطحية، وبدونها يحدث ضيق في عملية التنفس. وتكون مركبات الليسيثين مكونات للدماغ والانسجة العصبية وتوجد في مح البيض ايضاً. كما انها تعد مكونات اساسية لمادة البروتوبلازم لجميع خلايا الجسم. ويعد الفوسفاتيدايل كولين مركبا لخزن الكولين في الدماغ. حيث يتحول الكولين بفعل الانزيم اسيتايل ترانسفيريس acetyltransferase



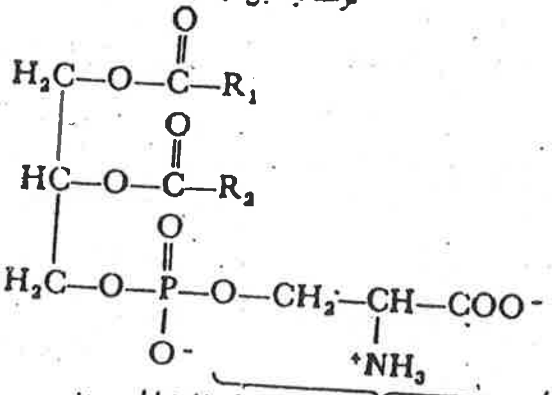
كولين

فوسفاتيد ايل كولين (ليسيثين)



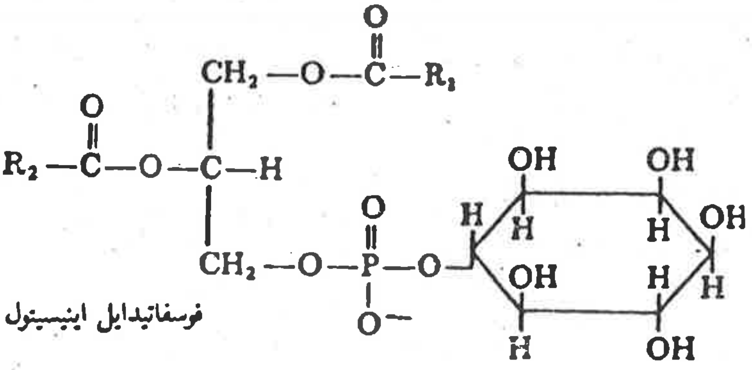
ايثانول أمين

فوسفاتيد ايل ايثانول أمين (سيفالين)



فوسفاتيد ايل سيرين

سيرين



فوسفاتيدايل اينيسيتول

شكل (4–7) –أ– امثلة لمركبات كليسيريدات فوسفاتية (مفسفرة)

الى المركب اسيتايل كولين acetyl choline الناقل للارسالات العصبية. وتحتوي سموم بعض الافاعي والحشرات السامة على انزيم فوسفو لايبيس A_2 (phospholipase A_2) يعمل على تحلل الليسيثين (ازاحة حامض الاوليك من درة الكربون الوسطى) لينتج المركب لايسوليسيثين lysolecithin الذي يؤدي الى تحلل كريات الدم الحمر erythrocytes وذلك عند تعرض الحيوان للدغ او لسع هذه الكائنات.

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

توجد مركبات السيفالين في انسجة الدماغ، وممتزجة مع مركبات فوسفاتيدايل سيرين (شكل 4—7) وتشترك مركبات السيفالين في عملية تخثر الدم.

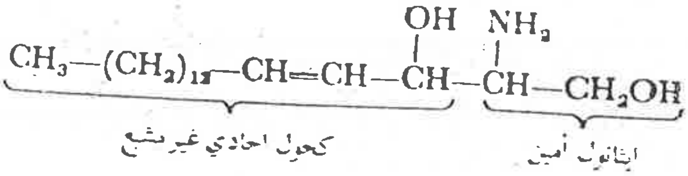
وتحتوي مركبات الكليسيريدات الفوسفاتيدية (شكل 4—7) على مجاميع مستقطبة تجعلها قابلة للذوبان في الماء في حين ان احتواءها على الاحماض الدهنية يجعلها تذوب في المذيبات غير المستقطبة. وبهذه الخاصية تستطيع هذه المركبات ان تعمل على تثبيت اللبيدات مع مجموعات البروتين والكربوهيدرات المستقطبة في الاغشية الخلوية. وكذلك فهي تستطيع ان تعمل على نقل الدهون من نسيج لآخر. وقد تستعمل في الصناعة ايضاً كمواد استحلاب emulsifiable agent كما هو الحال في الليسيثين الذي يحصل عليه من فول الصويا.

فوسفاتيدايل اينوسيتول — Phosphatidyl inositol

يوجد الفوسفاتيدايل اينوسيتول في معظم الانسجة الحيوانية، وخاصة في انسجة الدماغ والانسجة العصبية. ويعد المركب فوسفاتيدايل اينوسيتول ثلاثي الفوسفات مركباً اولياً لتوليد المركب اينوسيتول ثلاثي الفوسفات inositol triphosphate والمركب ثنائي اسايل كليسيرول، وهما من الرسل الكيمياوية الثانية second messenger التي تتوسط عمل الهورمونات (الرسل الكيمياوية الاولى) (الفصل الخامس عشر). (شكل 4—7).

3— اللبيدات الاسفنجية — Sphingomyelins

سميت هذه المركبات باللبيدات الاسفنجية بسبب احتوائها جميعاً على المركب سفنجوسين او احد مشتقاته. ويعد السفنجوسين (4— سفنجين) كحول غير مشبع مرتبطاً بالمركب ايثانول امين (شكل 4—8). وتحتوي اللبيدات الاسفنجية أيضاً على الحامض الدهني.

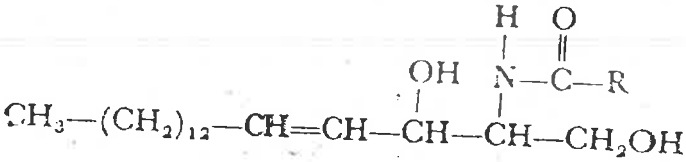


[illegible]

Ceramides

مركبات سيراميد

يعد السيراميد من ابسط انواع الليبدات الاسفنجية ، ويتألف من حامض دهني مرتبطاً مع سفنجوسين. وفي الانسان يعمل السيراميد مركباً وسطياً في تكوين ليبيدات اسفنجية اخرى ، وتحتوي جميع مركبات سفنجوليبد على وحدة سيراميد (شكل 4 — 9).

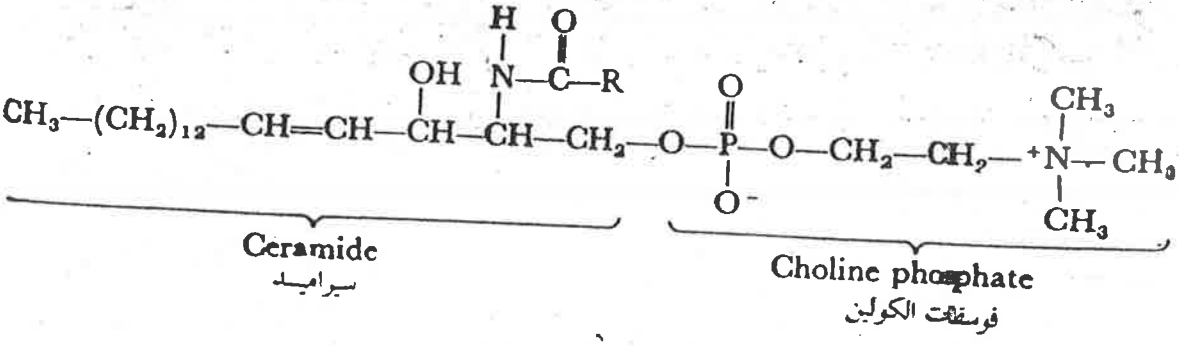


شكل (4 — 9) تركيب السيراميد

Sphingomyelins

مركبات سفينجومايلين

تتألف هذه المركبات من ارتباط وحدة السيراميد مع فوسفات الكولين او فوسفات ايثانول امين (شكل 4 — 10). وتعد مركبات سفنجومايلين مكونات مهمة لغلاف النخاعيين (مايلين الذي يعد مادة عازلة للانسجة العصبية) كما تعد من المكونات الاساسية لبروتوبلازم الخلية.



شكل (4 — 10) سفينجومايلين

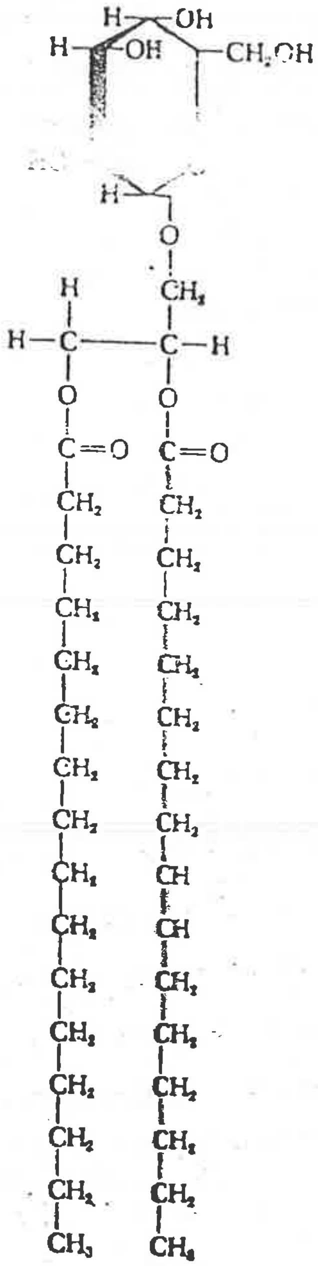
تمتاز الليبيدات الفوسفاتية وبضمنها الليبيدات الاسفنجية بامتلاكها شحنات كهربائية مختلفة حيث ان كلاً من القواعد (المجاميع) النتروجينية (مثل إيثانول امين ،

كولين ، سيرين) وكذلك مجموعة حامض الفوسفوريك ومجموعة COOH، الموجودة في تركيب هذه اللبيدات تكون متأينة على مدى واسع من ال PH وبضمنه ال PH الفسيولوجية للجسم(شكل 4—7 —أ و 4—10) . إن الجزء من تركيب الفوسفوليد الذي يحتوي على القاعدة النتروجينية ومجموعة الفوسفات ، يكون قطبياً ويسمى الرأس القطبي [illegible]

والذي يحوي على السلاسل الهايدروكاربونية الطويلة ، يكون لاقطبياً ويسمى الذيل (الطرف) اللاقطبي nonpolar tail ، ويكون كارهاً للماء hydrophobic . وبهذا تمتاز اللبيدات الفوسفاتية بامتلاكها خاصية قطبية— لاقطبية مزدوجة (أمفيباثك amphipathic، الفصل الثاني) . إن اللبيدات عموماً لاتذوب في المحاليل المائية ، غير ان اللبيدات الفوسفاتية بسبب امتلاكها الخاصية الامفيبائيكية تتمكن من التداخل interact مع الماء (المحاليل المائية) مكونة المذيلات micelles (شكل 4—5 ب وشكل 2—4 ، الفصل الثاني) .

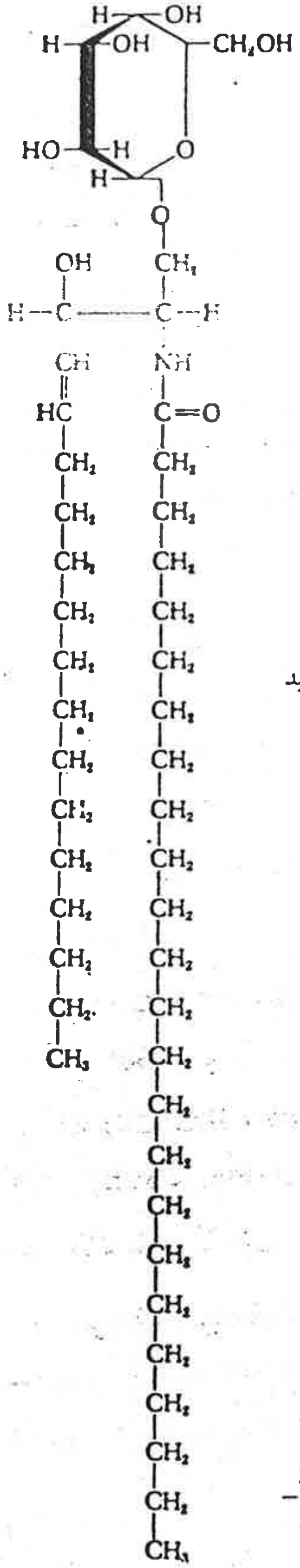
4- اللبيدات السكرية Glycolipids

تحتوي الدهون السكرية بصورة مميزة على مجموعة سكرية ولكنها لاتحتوي على حامض فوسفوريك . وان ابسط انواع الدهون السكرية هي مجموعة مركبات كلايكوسيل ثنائي اسيل كليسيرول (شكل 4—11) التي توجد في النباتات والكائنات الحية الدقيقة . اما المجموعة الثانية فتدعى مركبات سيريبروسيد Cerebrosides وهي تتألف من سكر سداسي مثل ، الكلوكوز او الكالاكتوز مرتبطاً مع سيزاميد (شكل 4—10) .وتعد مركبات سيريبروسيد من مكونات غلاف النخاعيين (مايلين myelin) الاساسية ، بهذا فهو من المكونات الرئيسية للاغلفة الدماغية والنخاع الشوكي والخلايا العصبية . ونظراً لاحتواء سيريبروسيد على سفينجوسين ، لذا يمكن اعتباره من الدهون السكرية— الاسفنجية . وتمتلك اللبيدات السكرية خواصاً قطبية— لاقطبية مزدوجة amphipathic بسبب احتوائها على المجموعة السكرية ذو الخواص القطبية وعلى السلاسل الهيدروكاربونية الطويلة ذو الخواص غير القطبية ، وبهذا فإنها تتمكن من التداخل مع الطور المائي ، مكونة المذيلات (شكل 4—5 ب وشكل 2—4 ، الفصل الثاني)

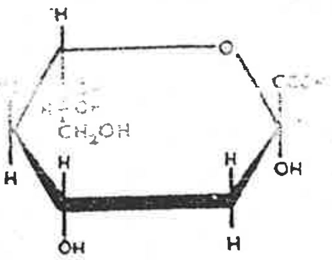


شكل (4–11) تركيب كالاكتوسايل ثنائي اسيل كليسيرول

وهناك مجموعة اخرى من الليبيدات السكرية (الحامضية) وتدعى هذه بمركبات جانكليوسيد Gangliosides ، وهذه تختلف عن مركبات سيريبروسيد في احتوائها على بضع وحدات من كل من سكر سداسي وحامض سياليك Cialicacid ، وهي موجودة المادة الرمادية للدماغ. وبسبب تواجدها بكثرة في نهايات الاعصاب ، لذا فمن المعتقد انها تشارك في نقل النبضات العصبية عبر التشابك العصبي ، وهي ايضاً من المكونات الرئيسة لأغلفة الالياف العصبية (شكل 4-12 ب ، جـ).



أ-



ب-

كالاكتوز – N – أسيتايل كالاكتوزأمين – كالاكتوز – كلوكوز – سيراميد

|

حامض سياليك

حـ-

شكل (12-4) أ- تركيب كالاكتوسيربيروسيد Galactocerobroside ب- حامض سياليك (N- أسيتايل نيورامينك Nana) حـ- أحادي جانكليوسيد

Lipoproteins

5- الليبيدات البروتينية (البروتينات الليبيدية)

الدهون البروتينية تتألف من اتحاد بعض الدهون مع البروتينات. ان الجزء الدهني [illegible] كوليستيرول حر (او مؤسترة) :

اكثر الدهون البروتينية شيوعاً هي تلك الموجودة في بلازما دم اللبائن حيث تقوم بعملية نقل الدهون(بسبب خواصها الامفيباثيكية) من الامعاء الدقيقة الى الكبد ثم من الكبد الى الانسجة الدهنية adipose tissues والانسجة الاخرى.

ويمكن تصنيف الدهون البروتينية استناداً الى كثافتها التي تمثل المحتوى الدهني الذي يتراوح نسبته بين 30 – 75 % . حيث كلما زاد المحتوى الدهني قلت كثافة الدهن البروتيني. وعلى العموم هناك اربعة انواع من الدهون البروتينية امكن عزلها وتشخيصها بوساطة تقنيات الطرد المركزي ذو السرعة الفائقة والهجرة الكهربائية :

أ- دهون بروتينية ذات كثافة عالية High density lipoprotein (HDL)

وتقوم هذه الدهون بنقل الكوليستيرول والبروتينات الليبيدية الأخرى من الأنسجة المختلفة الى الكبد .

ب- دهون بروتينية ذات كثافة واطئة Low density lipoprotein (LDL)

وتعمل على نقل الكولستيرول من الكبد الى الأنسجة الاخرى .

جـ- دهون بروتينية ذات كثافة واطئة جداً Very low density lipoprotein (VLDL)

وتنقل الدهون المتعادلة triglycerides المتكونة في الكبد endogenous من الكبد والأمعاء الى الأنسجة الاخرى .

د- الدقيات الكيلوسية ، كايلومايكرون (الكايلوس المايكروني) Chylomicrons

وتنقل الدهون المتعادلة الخارجية exogenous والتي منشأها الغذاء dietary من الامعاء الدقيقة الىالكبد والانسجة الاخرى.

Waxes

6- الشموع

تعد الشموع مركبات استر لاحماض دهنية وكحولات احادية الهيدروكسيل وذات سلسلة هيدروكاربونية طويلة . وتكون الشموع مركبات غير مستقطبة . والشموع موجودة في الطبيعة بشكل مزيج من اللبيدات تغطي سطح الجلد والفرو والريش واوراق النباتات وكذلك فهي موجودة في كيوتكل الهيكل الخارجي لعدة انواع من الحشرات . والمواد

الشمعية الطبيعية كشمع العسل مثلاً تحتوي. اضافة الى ذلك على مركبات اخرى كالبارافينات وكحولات دهنية اخرى ذات سلسلة هيدروكربونية طويلة ، 26 – 34 ذرةالكاربون . ويعد المركب مايريسايل بالميتيت myricyl palmitate احد المركبات الشمعية التي تدخل في تركيب الخلايا السداسية لعسل النحل (شكل 4 – 13) . المركب لانولين Lanolin او دهن الصوف ، هو المادة الشمعية التي تغطي شعيرات الصوف ويستعمل طبياً في التركيب بعض الدهانات وهو مزيج مركبات استر لأحماض دهنية وكحولات ستيرول (شمع اللانولين هو مزيج لاسترات حامض دهني وكحول ستيرولي، لانوستيرول (شكل 4-15) وأكنوستيرول agnosterol) .

$$CH_3-(CH_2)_{14}-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-O-CH_2-(CH_2)_{28}CH_3$$

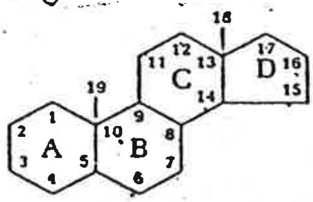
مايريسايل بالميتيت

شكل (4 – 13) احد مكونات شمع العسل

7 – مركبات الستيرويد Steroids

تعتبر مركبات الستيرويد steroids من الدهون المشتقة . تشتمل مركبات الستيرويد على الهورمونات الستيرويدية ومركبات الستيرول وكذلك املاح الصفراء Bile Salts . ومركبات الستيرويد من اللبيدات غير القابلة للتصبن ، وتعد مشتقات لمركبات كحول حلقية . وتتألف النواة الاساسية لهذه المركبات من مجموعة حلقات هيدروكاربونية مختزلة تدعى بيرهيدروسايكلوبيتانو فينانثرين Perhydro cylopentanophenanthrene كما تدعى ايضاً بنواة الستيرويد (شكل 4 – 14) .

Perhydro cylopen

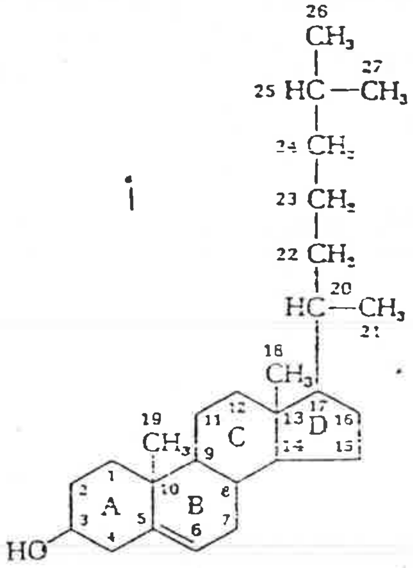


شكل (4 – 14) نواة الستيرويد

ان مجموعة مركبات الستيرويد التي تملك 8 – 10 ذرات كاربون كسلسلة جانبية في الموقع 17 وتملك مجموعة هيدروكسيل في الموقع 3 ، كما تملك مجموعتي مثيل عند المواقع الزاوية 10, 13 ، تدعى بمجموعة مركبات الستيرول Sterols .

ويعد الكوليستيرول (شكل 4—15) من انواع الستيرول الشائعة الوجود في الحيوان . والكوليستيرول هو المركب الوسطي في تكوين جميع الهورمونات الستيرويدية (فصل 15) واملاح الصفراء وفيتامين D (الفصل السابع) ويعتبر من المكونات الرئيسة لكل من غشاء

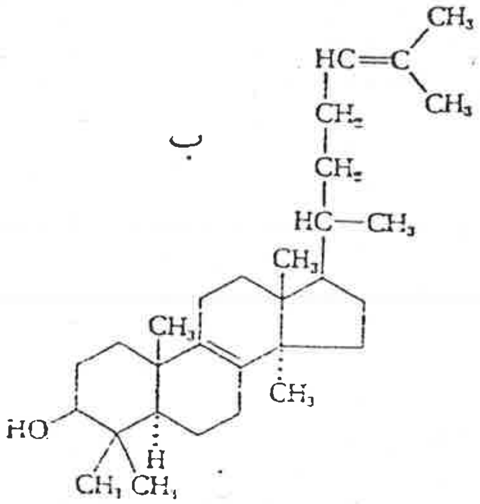
أ



Cholesterol

كوليستيرول

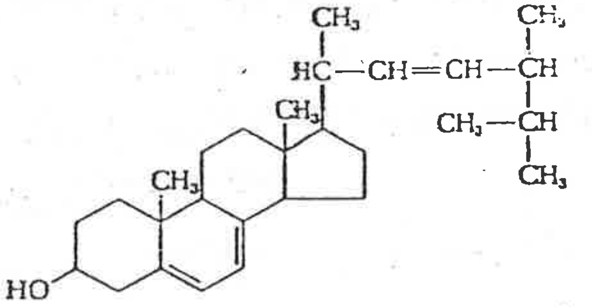
ب



Lanosterol

لانوستيرول

حـ



ergosterol

إركوستيرول

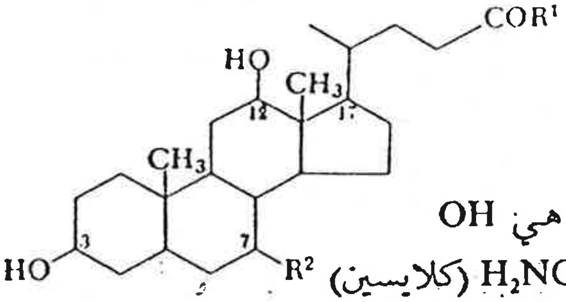
شكل (4—15) تركيب أ الكوليستيرول ب— لانوستيرول جـ— إركوستيرول

ويرتبط معظم الكوليستيرول في الدم مع احماض دهنية غير مشبعة عبر مجموعة HO عند الموقع 3 ليكون مركبات كوليستيرول استر.

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

كما أن اللانوستيرول lanosterol هو أحد الستيرولات المهمة الاخرى ويوجد في المادة الدهنية المغلفة للصوف ويعتبر أحد المكونات الوسطية المهمة في تخليق الكوليستيرول (الفصل 12). وإن المركب إركوستيرول ergosterol من مركبات الستيرول الموجودة في النبات، وهو مركب وسطي لفيتامين D (شكل 14–5– ب و حـ).

7- الأملاح الصفراء Bile salts فهي مواد استحلاب طبيعية (الفصل الثاني) موجودة في الصفراء (المرة). وتكون أملاح الصفراء في الكبد وتخزن في حويصلة الصفراء (المرارة) حيث تتحرر على دفعات لتساعد في عمليات هظم وامتصاص الدهون. ومحاليل أملاح الصفراء ذو PH قاعدية.ومن اهم املاح الصفراء تلك التي تشتمل على حامضي كوليك ودي اوكسي كوليك cholic acid and deoxycholic acid، اللذان يقترنان بالمركب كلايسين glycine او تايورين taurine بواسطة آصرة أميد ليكونا أملاح الصفراء.مثل صوديوم كلايكوكوليت Sodium glycocholate او صوديوم تايوروكوليت Sodium taurocholate شكل (4–16).



حامض كوليك : R^1 و R^2 هي OH

حامض دي اوكسي كوليك: R^1 هي H و R_2 هي OH

حامض كلايكوليك : R^1 هي H_2NCH_2COOH (كلايسين)

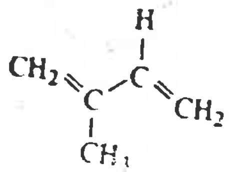
حامض تايوروكوليك : R_1 هي $NH_2CH_2CH_2SO_3H$ (تايورين)

شكل (4–16) التركيب الاساس لاملاح الصفراء

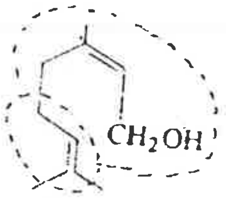
إن املاح الصفراء من الدهون الامفيباثيكية amphipathic ، حيث تمتلك خواص مستقطبة – غير مستقطبة مزدوجة ، ولهذا تستطيع أملاح الصفراء التداخل مع الطور المائي وتكوين المستحلبات .

8- مركبات التيربين Terpenes

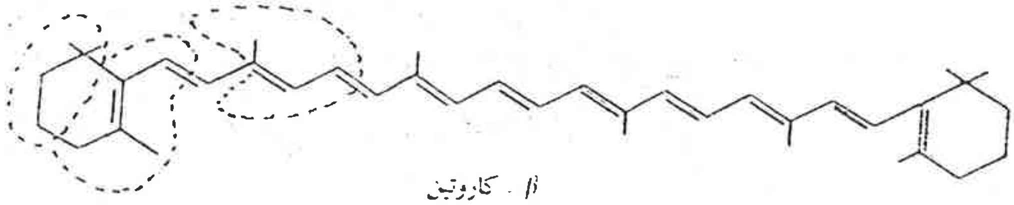
تعد مركبات التيربين مشتقات لبوليمرات مكونة من وحدات ايزوبرين Isoprene المكثفة (شكل 4–17). وهي ليبيدات غير قابلة للتصبن.



وتشمل مركبات التيربين على السكوالين squalene وجيرانويل geranoil وفارنيسول farnesol ، التي تعد مركبات وسطية لتكوين الكوليستيرول (شكل 4-18). كما تشمل ايضاً على المركب β كاروتين β - carotene الذي يعد مركبا وسطياً لفيتامين A (ريتينول retinol، الفصل السابع) شكل (4-18).



جيرانويل



β - كاروتين

شكل (4-18) أمثلة لمركبات تيربين

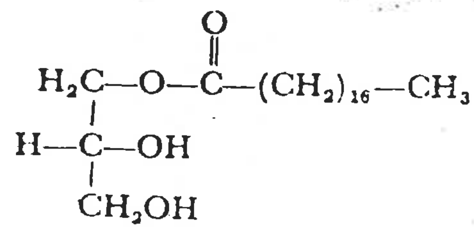
ومركبات التيربين تشتمل على الزيوت الاساسية essential oil ، مثل كامفور Camphore والأحماض الراتنجية resins والمطاط وغيرها.

تمرينات الفصل الرابع

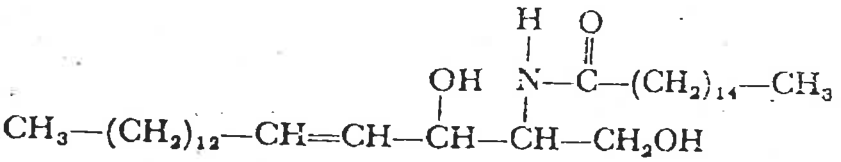
١ – صف مركبات اللبيد الآتية بمدلول مايأتي من المكونات: احماض دهنياً مشبعة وغير مشبعة ، كليسرول ، فوسفات ، سفنجوسين ، كاربوهيدرات ، كولين ، ايثانول امين [illegible]

بروستاكلاندين ، اسيل كليسيرول. كليسيريدات فوسفاتيدية ، سيراميد ، سيريبروسيد ، سفنجومايلين او جانكليوسيد.

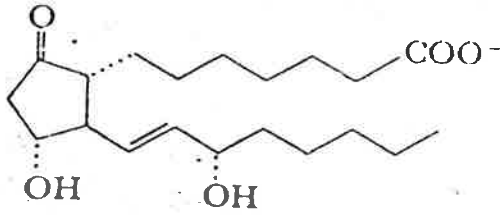
أ 1.



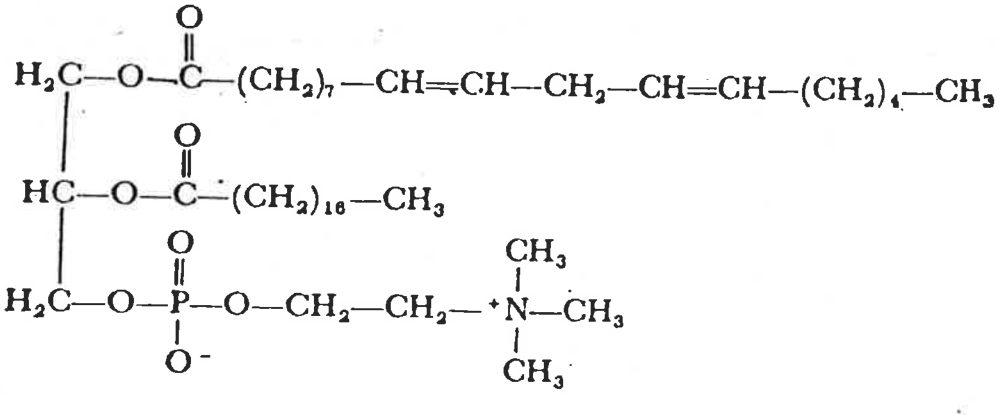
ب

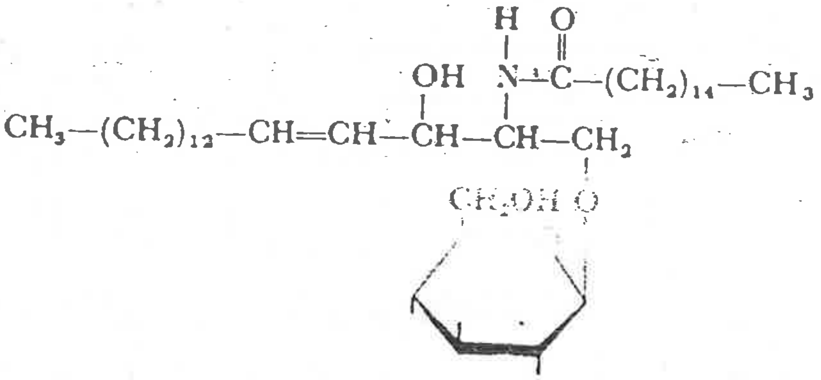


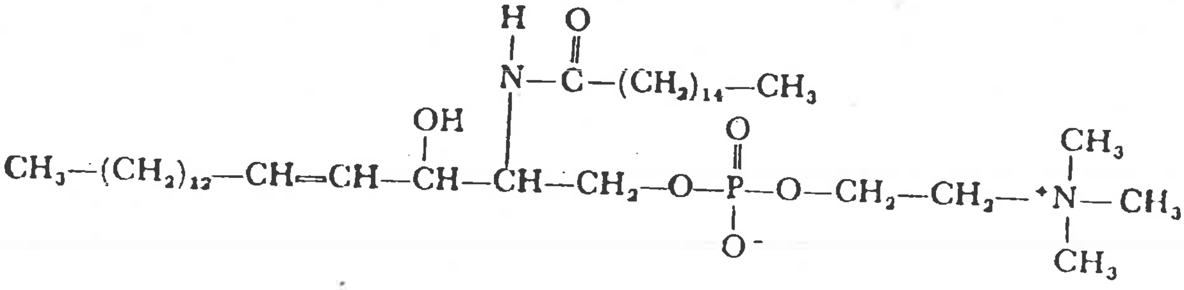
ج



د







2 – تحتوي الاغشية الحياتية في تركيبها على اثنين من اصناف المركبات الرئيسة ، ماهما؟

3 – أي من اللبيدات المعقدة الشائعة ، تحتوي على مجموعة مستقطبة ولكن غير مشحونة وتميل للتداخل مع الماء (محبة للماء).

4 – اذكر اثنين من الفروقات بين دقائق المذيلات (ميسيلز) والقطرات المستحلبة.

5 – يعد الكوليستيرول :

أ. ستيرول حامضي

ب. 17 – كيتوستيرويد

جـ. مركب وسطي لجميع الهورمونات

د. 17 – HO – كورتيكوستيرويد

اي من الاجابات أعلاه هي الصحيحة ؟

الفصل الخامس

الاحماض الامينية ، الببتيدات والبروتينات

Amino acids, Peptides and Proteins

الاحماض الامينية شائعة الوجود في البروتين

The Common amino acids of Proteins

الاحماض الامينية عامة هي احماض عضوية تحوي مجموعة أمين. ويعد الحامض الأميني كلايسين من أبسط أنواع الاحماض الامينية (شكل 5 – 1).

CH_2COOH | NH_2	CH_2COO^- | NH_3^+
Undissociated form	Ionized form
كلايسين (بشكل غير متأين)	كلايسين (بشكل متأين)

شكل (5 – 1) تركيب الحامض الاميني كلايسين

وغالباً مايمثل التركيب الكيمياوي للحامض الاميني بشكل غير متأين لغرض التأكيد على مجموعتي الأمين والكربوكسيل. غير ان الاحماض الامينية موجودة بشكل غالب بصورة متأينة في سوائل الجسم الحي وعند رقم هيدروجيني (pH) مقارباً 7.0 (شكل 5 – 1). ويطلق على مجموعة الامين المتصلة بذرة الكاربون المجاورة لمجموعة الكربوكسيل بمجموعة الامين الفا (–α). وبما ان جميع الاحماض الامينية البروتينية الشائعة تكون مجموعة الامين العائدة لكل منها في الموقع (α). لذا فانها تعرف بالاحماض الامينية ألفا (شكل 5 – 2).

$$R - \overset{\alpha}{C}H - COO^- \quad (\text{C}_\alpha \text{ bonded to } {}^+NH_3)$$

شكل (5 – 2) التركيب الكيمياوي العام للاحماض الامينية ألفا (α)

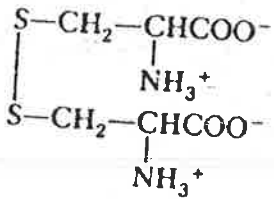
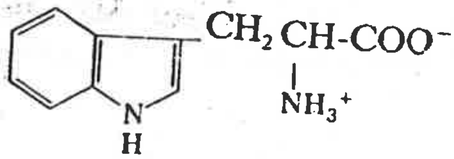
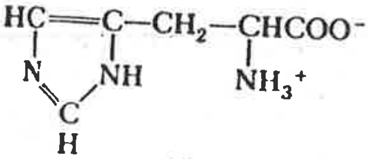
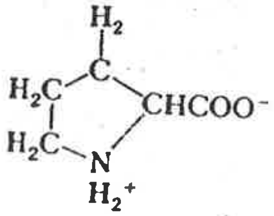
وهناك حوالي عشرين نوعاً من الأحماض الامينية ألفا تكون موجودة عامة في جميع انواع البروتينات. وهي تؤلف الوحدات البنائية الاساسية للبروتينات قاطبة وبهذا فهي تدعى بالاحماض الامينية البروتينية.

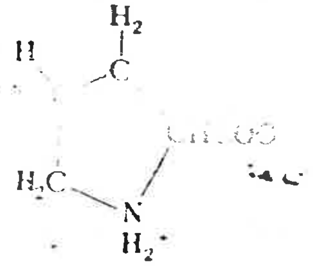
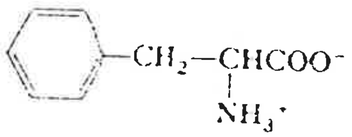
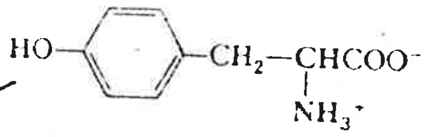
ويمكن تقسيم الاحماض الامينية الى مجموعات وذلك تبعاً للتركيب الكيمياوي للمجموعة R المرتبطة بذرة الكربون α للحامض الاميني. ويوضح الجدول (5-1) الاسماء الشائعة للاحماض الامينية العامة. ويعقب هذه الاسماء مختصراتها التي غالباً ماتستعمل للاشارة الى ترتيب هذه الاحماض الامينية في بروتين ما. كما يبين الجدول أدناه التركيب الكيمياوي لمجموعات الاحماض الامينية العامة بالشكل المتأين حيث يتواجد هذا الشكل في مدى رقم هيدروجيني pH (6 – 7). ويبين الجدول ايضاً إن هذه الاحماض الأمينية البروتينية يحتوي كل منها على مجموعة كاربوكسيل وذرة كاربون ألفا تتصل فيها مجموعة أمين كما يبين الجدول ايضاً الاحماض الامينية الاساسية essential amino acids اي التي لايستطيع الانسان تكوينها داخل جسمه بكميات كافية وبهذا يجب ان يتناولها مع الغذاء.

جدول (5 – 1) انواع الاحماض الامينية البروتينية الشائعة طبقاً للطبيعة الكيمياوية للمجموعة R المتصلة بذرة الكربون α للحامض الأميني. وفي هذا الجدول تكون المجموعات الامينية والكربوكسيلية متأينة كما هو الحال عند الرقم الهيدروجيني PH (6 – 7).

التركيب	الاسم واختصاره
اليفاتية *Aliphatic*	
$H-CH(NH_3^+)COO^-$	كلايسين Glycine (Gly)
$CH_3-CH(NH_3^+)COO^-$	ألانين Alanine (Ala)
$CH_3-CH(CH_3)-CH(NH_3^+)COO^-$	فالين valine (Val)

التركيب	الاسم واختصاره
$CH_3-CH(CH_3)-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	ليوسين اساسي X
$CH_3-CH_2-CH(CH_3)-CH(NH_3^+)COO^-$	ايزوليوسين Isoleucine (Ile) اساسي X
$CH_2(OH)-CH(NH_3^+)COO^-$	سيرين Serine (Ser)
$CH_3-CH(OH)-CH(NH_3^+)COO^-$	ثريونين Threonine (Thr) اساسي اساسي
قاعدية *Basic*	
$CH_2(NH_2)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	لايسين Lysine (Lys) اساسي
$NH_2-C(=NH)-NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	أرجينين Arginine (Arg) أساسي
حامضية *Acidic*	
$^-OOC-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	حامض اسبارتيك Aspartic acid (Asp)
$^-OOC-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	حامض كلوتاميك Glutamic acid (Glu)

التركيب	الاسم واختصاره
أميدات حامضية *Acidic amides*	
$NH_2OC-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	Asparagine (Asn) أسباراجين
$NH_2OC-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	Glutamine (Gln)
حاوية كبريت *Sulfur-containing*	
$HS-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	Cysteine (Cys) سايستيين
	Cystine (Cys-Cys) سايستين
$CH_3-S-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)COO^-$	Methionine (Met) ميثيونين (أساسي)
غير متجانسة الحلقة *Heterocyclic*	
	Tryptophan (Trp) ترايبتوفان اساسي
	Histidine (His) هيستيدين اساسي
	Proline (Pro) برولين

التركيب	الاسم واختصاره
	برولين
أروماتية *Aromatic*	
	فينايل الانين Phenylalanine (Phe) (اساسي)
	تايروسين Tyrosine (Tyr)

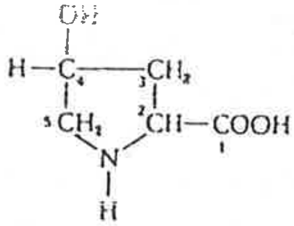
الاحماض الامينية النادرة في البروتينات The Rare amino acids of protein

بالاضافة الى الاحماض الامينية البروتينية العامة هناك أنواع قليلة اخرى توجد كعناصر ثانوية في تركيب بعض البروتينات المتخصصة. وتعتبر هذه الأحماض النادرة من مشتقات الاحماض الامينية البروتينية. ومن هذه الاحماض الإمينية 5– هيدروكسي لايسين 5-Hydroxylysine و4– هيدروكسي برولين Hydroxyproline –4 الموجودان في البروتين الليفي كولاجين Collagen وكذلك N – مثيل لايسين N – Methyllysine الموجود في البروتين العضلي مايوسين myosin (شكل 5–3)

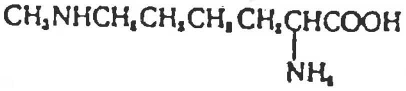
الاحماض الامينية غير البروتينية Non protein amino acids

بالاضافة الى الاحماض الامينية البروتينية العامة والنادرة توجد احماض امينية اما بصورة طليقة او مرتبطة ولكنها لاتدخل في تركيب بروتينات الكائنات التي تنتجها مثل:

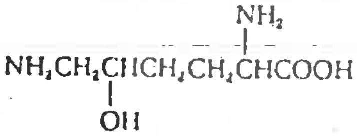
β – آلانين وهو من المواد الاولية لفيتامين حامض بانتوثنيك pantothenic acid (فصل 7) وحامض 7 – امينوبيوتيريك 7 – aminobutyric acid الذي يعد المثبط الكيمياوي الناقل العصبي في مناطق معينة من الجهاز العصبي شكل (5-4).



4 – هيدروكسي برولين

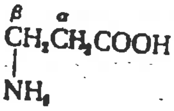


N – مثيل لايسين

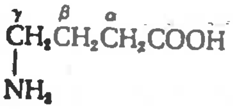


5 – هيدروكسي لايسين

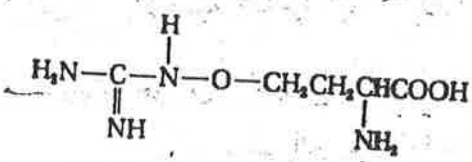
شكل (5 – 3) التركيب الكيمياوي لبعض الاحماض الامينية النادرة



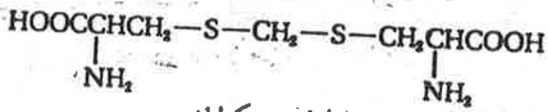
β ألانين



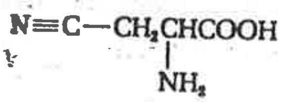
حامض 7 مينوبيوتيريك



كانافانين



حامض دينكوليك



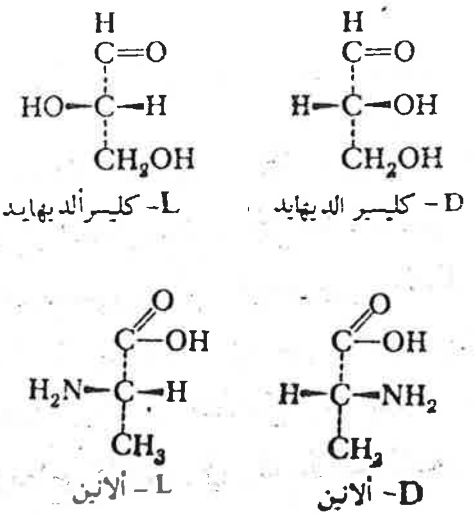
β سيانو ألانين

شكل (5 – 4) التركيب الكيمياوي لاحماض امينية غير بروتينية

وتحتوي الفطريات والنباتات المتقدمة على مجموعة واسعة من الاحماض الامينية غير البروتينية المختلفة مثل كانافانين Canavanine و β – سيانو آلانين β – cyanoalanine وحامض دينكوليك Djenkolic acid (شكل 5 – 4). وهذه جميعاً تكون سامة لكائنات حية عديدة. وقد وجد ان للكثير من هذا النوع من الاحماض الامينية وظائف حيوية اولية ضرورية في حياة الكائن الذي يقوم بتخليقها.

الفعالية البصرية للاحماض الامينية Optical activity of amino acid

تحتوي جميع الاحماض الامينية ماعدا الكلايسين على ذرة كاربون غير متماثلة في تركيبها الكيمياوي. وبهذا فهي يمكن ان تتواجد بشكل D او L (انظر الفصل الثالث) وباستعمال الألانين مثالاً لحامض اميني بسيط ، يمكن مقارنة الاشكال D , L مع تلك في الكليسير الديهايد (شكل 5 – 5).



شكل (5-5) اشكال L-D للحامض الاميني الألنين مقارنة مع تلك في الكليسيرألديهايد

وتملك جميع الاحماض الامينية الموجودة في الطبيعة تقريباً التوزيع الفضائي بالشكل L الذي يمكن ان يكون (+) او (–) تبعاً لنوع تدوير كل منها لسطح الضوء المستقطب. وقد فصلت الاحماض الامينية D – ألانين وحامض D – كلوتاميك من الكائنات المجهرية وخاصة من الجدار الخلوي لها.

الخصائص الحامضية – القاعدية للاحماض الامينية

The Acid – base properties of amino acids

تسلك الاحماض الامينية سلوك الاحماض الضعيفة كذلك سلوك القواعد الضعيفة، وذلك لانها تحتوي على مجموعة كربوكسيلية واحدة ومجموعة امين واحدة على الاقل. ويطلق على المواد التي تتأين حامضياً وقاعدة في الوقت نفسه في المحاليل المائية، بالمواد ذات التفاعلين او امفوتيرية amphoteric. مثلاً ، في الكلايسين ، تتأين كلا المجموعتين الحامضية والقاعدية في المحاليل لتكون ايونات ثنائية القطب (.zwitter ion زفيتر ايون ، بالالمانية ثنائية الايون) (شكل 5 – 6).

$$\underset{\displaystyle NH_3^+}{\overset{|}{C}}H_2COO^-$$

شكل (5 – 6) جزيئ الكلايسين بصيغة ايون ثنائي القطب

ويكون جزيئ الكلايسين متعادلاً كهربائياً ، حيث يحوي عدداً متساوياً من الشحنات الموجبة والسالبة. وبهذا فان جزيئ الكلايسين بشكل الايون ثنائي القطب هذا ، سيكون متعادلاً كهربائياً isoelectric. ويدعى الرقم الهيدروجيني (PH) الذي لاينجذب فيه الايون الثنائي القطب في مجال كهربائي نحو اي من القطبين بنقطة التعادل (التماثل) الكهربائي isoelectric point (PI) . تتفاعل المركبات الامفوتيرية مع كلا الاحماض والقواعد لتكون الاملاح كما مبين في المعادلات الاتية:

$$CH_3-\underset{\displaystyle NH_3^+}{\overset{|}{C}}H-COO^- + HCl \rightarrow CH_3-\underset{\displaystyle NH_3^+Cl^-}{\overset{|}{C}}H-COOH$$

$$CH_3-\underset{\displaystyle NH_3^+}{\overset{|}{C}}H-COO^- + NaOH \rightarrow CH_3-\underset{\displaystyle NH_2}{\overset{|}{C}}H-COO^-\,Na^+ + H_2O$$

ويتضح من هذه المعادلات ان اضافة H^+ الى جزيئ متعادل كهربائياً يؤدي الى زيادة الشحنة الموجبة (N^+H_3) ، حيث ان اضافة H^+ (الحامض) تعمل على معادلة الشحنة السالبة لمجموعة (COO^-). وبالعكس ، فانه عند اضافة OH^- (قاعدة) الى جزيئ متعادل كهربائياً يؤدي الى زيادة الشحنة السالبة ($-COO$) ، حيث ان القاعدة تعادل الشحنة الموجبة لمجموعة (N^+H_3). وحيث ان البروتين يتألف من احماض امينية ، ولهذا فهو

مادة امفوتيرية. وان كل بروتين له نقطة تعادل كهرباني معينة وله القابلية على معادلة الاحماض والقواعد. وهكذا فان مثل هذه الخصائص للبروتينات تمكنها من ان تعمل كمواد منظمة او حافظة Buffers في الدم او في سوائل الجسم الاخرى (الفصل الثاني).

معايرة (تسحيح) الاحماض الامينية Titration of amino acids

تعمل الاحماض الامينية كمحاليل منظِمة في الدم اوفي سوائل الجسم الاخرى ، حيث ان الطبيعة الايونية الثنائية القطب لها تعطي اثنين من ثوابت التأين على الاقل وذلك عند تفاعلها مع الحامض او القاعدة. وفي المحاليل المنظمة البسيطة فان معادلة هينديرسون– هاسيلبالج (الفصل الثاني) تمثل ثابت التأين pK بأنه ال pH التي توجد عندها تراكيز متساوية من الملح والحامض للمحلول المنظم كما في المعادلة الآتية:

$$pH = pK + \log \frac{[\text{ملح}]}{[\text{حامض}]}$$

$$pH = pK + \log \frac{1}{1}$$

$$pH = pK$$

ويمكن استعمال حامض اميني بسيط مثل الكلايسين مثالاً للاحماض الامينية (او البروتينات) التي تعمل كمحاليل منظمة. فعند معايرة محلول كلايسين مع حامض او قاعدة ، فان الجزيء يتغير من شكل الايون الثنائي القطب الى شكل متأين يحمل فقط مجموعة امين مشحونة او مجموعة كاربوكسيل مشحونة ، ويمكن تمثيل هذا بالمعادلة الاتية:

$$\underset{NH_3^+}{CH_2}-COOH \underset{pk_1}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} H^+ + \underset{NH_3^+}{CH_2}-COO^- + OH^- \underset{pk_2}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} \underset{NH_2}{CH_2}COO^-$$

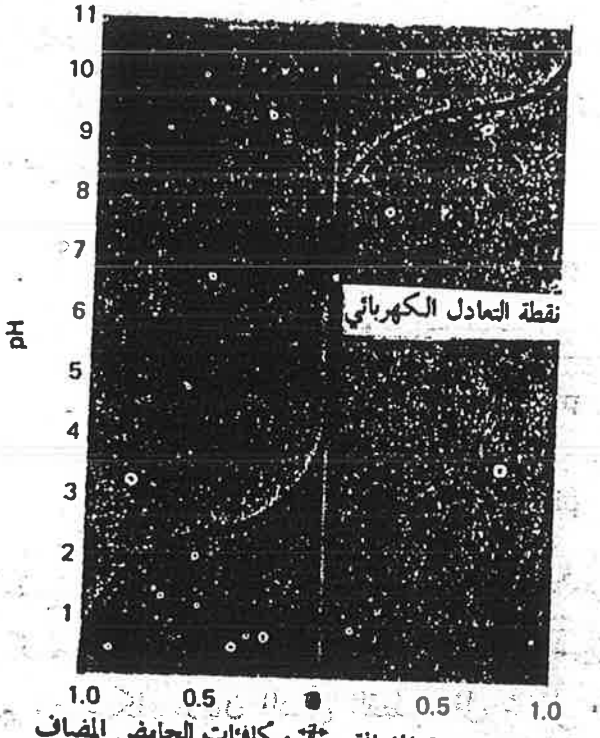
pH = 2.4   pH = 9.6

محلول حامضي   ايون ثنائي القطب
نقطة التعادل الكهرباني   محلول قاعدي

PH = 6.0

والمزيج المكون من كلايسين بشكل ايون ثنائي القطب (زفيتر أيون) وكلايسين بشكله في المحلول الحامضي ، هذا المزيج ، يؤلف محلولاً منظماً. وفي مثل هذا المحلول تتساوى قيم

هذه النقطة تكون pK_1 عند pH 2.4 مطابقة ايضاً لمتصف نقطة التعادل لمجموعة الكاربوكسيل. وعند اضافة القاعدة الى الكلايسين، فان الـ pk_2، او نقطة منتصف التعادل لمجموعة الامين، تطابق pH 9.6. ويبين الشكل (5—7) منحني المعايرة للكلايسين مع حامض اوقاعدة، وفيه تتضح منطقتا محافظة وكذلك قيم pK التي تطابق المحاليل المنظمة في المحيط الحامضي او في المحيط القاعدي.



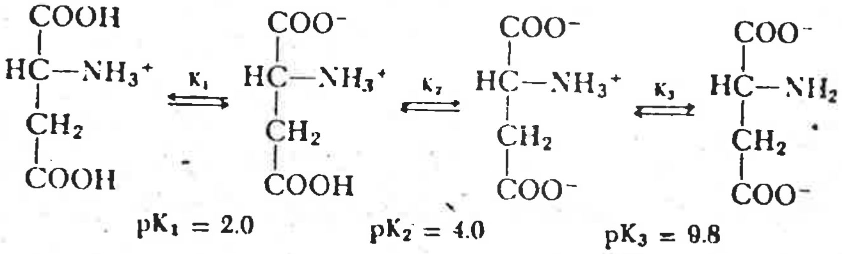
شكل (5—7) منحنى المعايرة للكلايسين

ان للاحماض الكربوكسيلية احادية الامين قيمتين لـ pK وهي تعمل منظمات في منطقتين من الـpH كما هو الحال للكلايسين (شكل 5—7). ويمكن حساب الـ pH لنقطة التعادل الكهربائي وذلك بقسمة مجموع قيمتي pK على 2:

$$pI = \frac{pK_{a_2} + pK_{a_1}}{2}$$

$$\frac{9.6 + 2.4}{}$$

اما الاحماض الامينية المعقدة التركيب مثل حامض اسبارتيك ولايسين فان لها ثلاث قيم pK وتتواجد كل من هذه الاحماض الامينية بأربعة اشكال متأينة. ويمكن تمثيل تأين حامض اسبارتيك كالآتي :

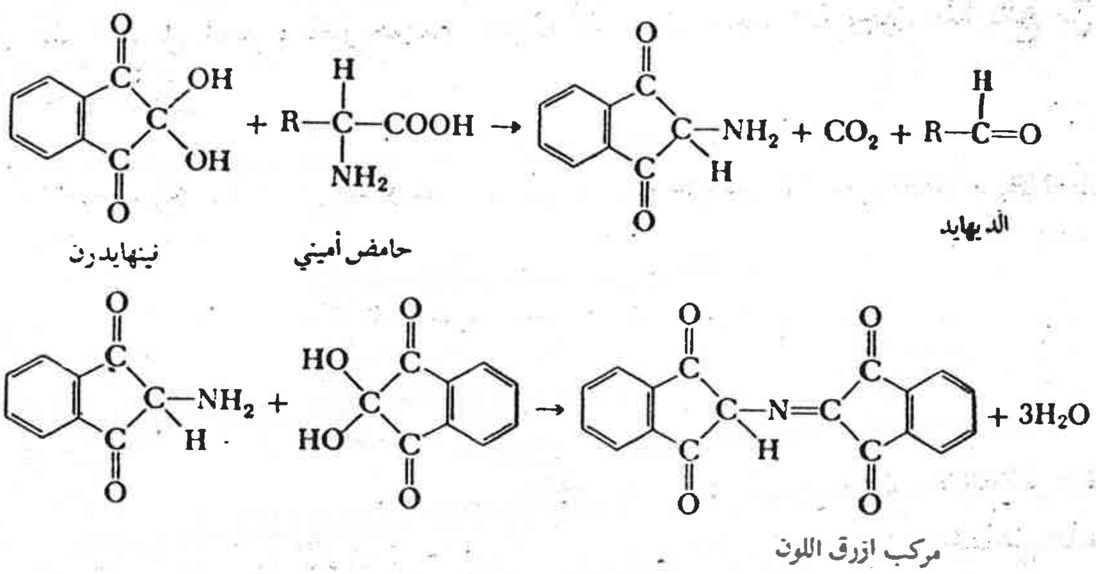


التفاعلات المهمة للاحماض الامينية

Important chemical reaction of amino acids

Ninhydrin التفاعل مع المادة الكاشفة نينهايدرين

تتفاعل الاحماض الامينية مع نينهايدرين triketohydrindene hydrate لتكون الالديهايد ، CO_2,NH_3 (شكل 5 – 8). ان كمية CO_2 المحررة من هذا التفاعل يمكن ان تستعمل للتقدير الكمي للاحماض الامينية. اما NH_3 المتكونة في التفاعل نفسه فانها ترتبط بجزيئين من نينهايدرين لتكون مركباً أزرق اللون ، وهذا يشكل الاساس للطريقة اللونية المستعملة في التقدير الكمي للاحماض الامينية.



تفاعلات لونية لأحماض امينية معينة

هناك أحماض أمينية معينة يحتوي كل منها على مجموعة فعالة معينة وبهذا فهي تعطي تفاعلاً لونياً خاصاً يفيد في التقدير النوعي والكمي لتلك الأحماض الأمينية. مثلاً، تفاعل مليون Millon يستعمل للكشف عن التايروسين حيث يتكون معقد أحمر اللون للتايروسين والزئبق. وتفاعل هوبكينس– كول Hopkins – Cole يتضمن تفاعل التريبتوفان مع حامض الكلايوكسيليك ليتكون لون بنفسجي. اما تفاعل ساكاكوشي Sakaguchi فانه يتضمن تفاعل مجموعة الكوانيدين guanidin للأرجينين مع α– نافثول وصوديوم هايبوكلورايت Sodium hypochlorite ليتكون لون أحمر. اما السايستيين والبروتينات التي تحوي مجموعات SH فانها تعطي لوناً أحمر مع صوديوم نيتروبروسيد Sodium nitroprusside. كما يكون كل من السايستيين والسايستين راسبا اسوداً لل pbs في الكشف المستعمل عن الكبريت غير المؤكسد، وذلك عند معاملته مع خلات الرصاص.

التفاعل مع حامض النتروز Nitrous acid

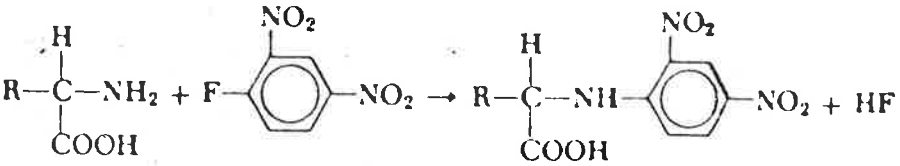
يعد هذا التفاعل (شكل 5–9) الأساس لطريقة فان سلايك Van Slyke المستخدمة في تقدير مجموعات الأمين الحرة للحامض الأميني. وان غاز النتروجين المتحرر في هذا التفاعل يجمع ويقدر حجمه. حيث أن نصف حجم النتروجين هذا ينتج من الحامض الأميني.

$$\underset{\displaystyle COOH}{R-\underset{|}{C}H-NH_2} + NaNO_2 + HCl \rightarrow [\underset{\displaystyle COOH}{R-\underset{|}{C}H-\overset{+}{N}{=}N}]Cl^- \rightarrow \underset{\displaystyle COOH}{R-\underset{|}{C}H-OH} + N_2 + NaCl + H_2O$$

شكل (5–9)تفاعل حامض اميني مع حامض النتروز

التفاعل مع 1 – فلورو – 4,2 – ثنائي نتروبنزين 1 – Fluoro – 2,4 – dinitrobenzene (FDNB)

وتدعى هذه المادة الكاشفة FDNB بكاشف سانكر Sanger أيضاً. وتتفاعل هذه مع مجموعة الأمين الحرة للحامض الأميني لتكون مركباً أصفر اللون DNP – حامض أميني (شكل 5–10).



DNP حامض أميني

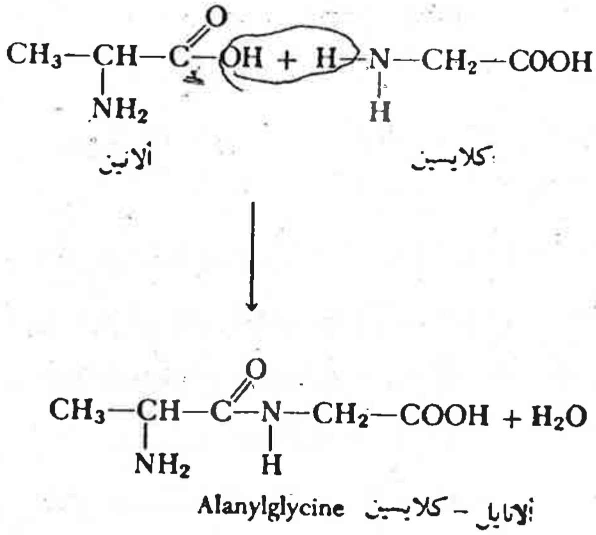
مركب اصفر اللون

شكل 5-10 تفاعل سانكر

ويعد هذا التفاعل مهماً جداً في ايجاد تركيب البروتين، حيث أن هذه المادة تتفاعل مع مجموعة الأمين الحرة للحامض الأميني النهائي (الأخير) في بروتين ما، فيسهل تشخيص ذلك الحامض الأميني.

البيبتيدات Peptides أو متعدد البيبتيد polypeptides

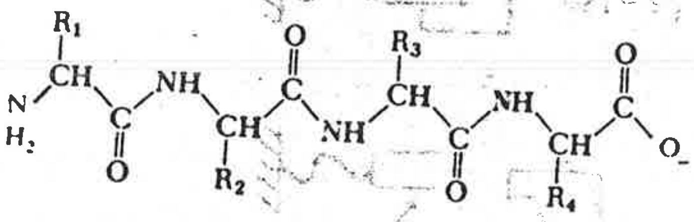
ترتبط الأحماض الأمينية مع بعض بوساطة أواصر بيبتيدية peptide bonds لتكون جزيئات بيبتيد peptides وبروتين proteins. والآصرة البيبتيدية هي آصرة أميد متكونة من تفاعل مجموعة الكاربوكسيل ألفا للحامض الأميني الأول مع مجموعة الأمين ألفا للحامض الأميني الآخر يصاحبها فقدان جزيئة ماء (شكل 5 — 11). ان الآصرة البيبتيدية C — N لها بعض خواص الآصرة المزدوجة وهذا مايجعلها صلدة ومما يمنع المجموعات المتجاورة من الدوران بحرية.



شكل 5-11 تكوين بيبتيد ثنائي

يدعى المركب ألانايل – كلايسين alanylglycine ببتيد ثنائي dipeptide (شكل 5 – 11). أما عند اتحاد ثلاثة أحماض امينية بالطريقة نفسها اعلاه، فأن الناتج يدعى ببتيد ثلاثي tripeptide .. وعند اتحاد عدد كبير من الاحماض الأمينية بوساطة الأواصر الببتيدية، فإن الناتج يدعى ببتيد متعدد polypeptide. وتدعى الأحماض الامينية المكونة لببتيد ما بمتخلفات الأحماض الأمينية amino acid residues وذلك اشارة لما تبقى منها بعد فقدانها جزيئات الماء لتكوين الأواصر الببتيدية. وتنتهي السلسلة الببتيدية من الطرف الأيسر بمجموعة أمين حرة amino terminal. بينما تنتهي بمجموعة كاربوكسيل حرة carboxyl terminal، عند الطرف الأيمن (شكل (5 – 12).

يطلق عادة على متعدد الببتيد الذي يكون وزنه الجزيئي أكثر من 5000 ويحوي أكثر من 40 وحدة من مخلفات الاحماض الأمينية بالبروتين. أما اذا كان جزيء الببتيد أصغر من هذا فيطلق عليه بمتعدد ببتيد. وتركيب السلسلة الببتيدية (شكل 5 – 12) يوضح التركيب الأولي للبروتين في الوقت نفسه.



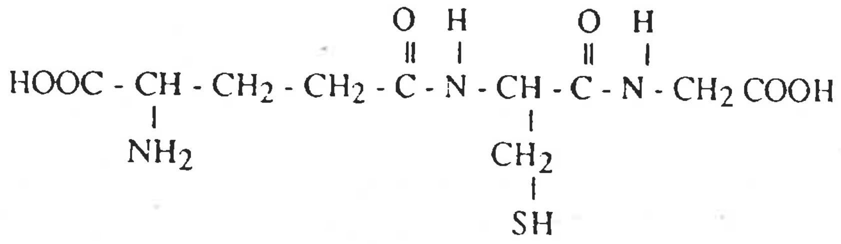
شكل (5 – 12) تركيب سلسلة ببتيدية وتشير مجاميع R الى السلاسل الجانبية للاحماض الامينية المكونة.

البيبتيدات الفعالة فيسيولوجياً
The Peptides of physiological activity

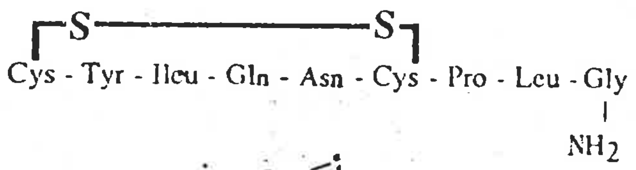
تحتوي خلايا الحيوان، النبات والبكتريا على مركبات متعددة الببتيد ذات وزن جزيئي واطئ ولها فعاليات فيسيولوجية مهمة. مثلاً، الببتيد الثلاثي كلوتاثيون glutathione، γ – glutamyl – Cysteinyl – glycine. (شكل 5 – 13) موجود في جميع الكائنات الحية. وفي الانسان والحيوان، يكون وجود الكلوتاثيون ضرورياً لعمل العديد من الانزيمات وكذلك لعمل الانسولين.

ان الكلوتاثيون يعمل كمادة ضد التاكسد، حيث يحافظ على وجود مجموعات

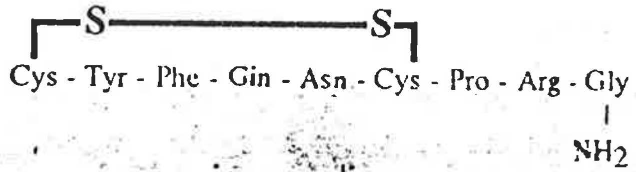
واهبا للالكترون (أنظر فصل 13).



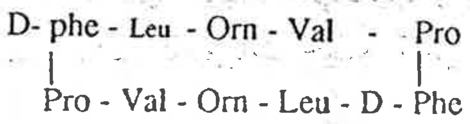
(γ glutamul-cysteiny! glycine) كلوتاثيون



أوكسيتوسين



فاسوبريسين



كراميسيدين

شكل (5—13)امثلة لببتيدات لها وظائف حيوية

كما يعمل الكلوتاثيون مع انزيم كلوتاثيون بيروكسيديس glutathione peroxidases (GP) على إزالة مركبات البيروكسيدات العضوية وH_2O_2 السامة. حيث يتفاعل كلوتاثيون (GSH) مع كلاً من هذه المركبات ، لينتج كلوتاثيون مؤكسد (GSSG) وماء كما يأتي :

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

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GP} GSSG + ROH + H_2O$$

أما هورمونات اوكسيتوسين oxytocine وفاسوبريسين التي تفرز من الفص الخلفي للغدة النخامية ، فهما عبارة عن ببتيدات حلقية كبيرة (شكل 5—13). يعمل الاوكسيتوسين على تقلص العضلات الملساء، بينما يعمل فاسوبريسين على تقلص الاوعية

(انظر الفصل 15). ومما يجب ملاحظته جيداً هوكون كل من اوكسيتوسين وفاسوبريسين، ببتيداً محتوعلى ستة احماض امينية وعلى جسر ثنائي الكبريت بربط وحدتي السايستين عبر اربعة احماض امينية (شكل 5 – 13). غير ان كلا الببتيدين يختلفان عن بعض بوحدتين فقط من الأحماض الأمينية المكونة وهذا الاختلاف ادى الى اختلاف الفعالية الفيزيولوجية لكل منها.

كراميسيدين Gramicidin، من المضادات الحيوية antibiotic، وهو ببتيد حلقي مؤلف من عشرة أحماض أمينية، وينتج من قبل بعض البكتريا (شكل (5 – 13).

Biuret test

كشف بايوريت

يعطي تفاعل بايوريت لوناً بنفسجياً – وردياً مع المركبات التي تحوي أواصر ببتيدية. غير أنه لايعطي كشفاً موجباً مع الأحماض الأمينية الحرة. ويتضمن هذا الكشف اضافة محلول مخفف من كبريتات النحاس الى محلول قاعدي يحوي ببتيد او بروتين. ويستخدم هذا التفاعل احياناً في التقدير الكمي للبروتينات حيث تقاس شدة اللون الناتج عند nm750.

Hydrolysis of Peptides

تحلل الببتيدات

تكمن المرحلة الأولى في تحديد التركيب الاولي لسلسلة ببتيدية (أو لبروتين ما)، بالتشخيص والتقدير الكمي لمكوناته من الاحماض الامينية. ولهذا الغرض تحلل الأواصر الببتيدية التي تربط الأحماض الامينية بإحد العوامل التالية:

•

Acid Hydrolysis

أ– التحلل الحامضي

تتحلل معظم الببتيدات (والبروتينات) كلياً الى احماض أمينية، وذلك بتسخين الببتيد مع 6N HCL عند 110 م لمدة تتراوح مابين 20 – 70 ساعة في معزل عن الهواء لمنع حدوث اي تأكسد جانبي. غير أن في طريقة التحلل هذه، تتحول جميع وحدات كلوتامين وأسباراجين الى حامضي كلوتاميك وأسبارتيك على التوالي علاوة على الأمونيا. ويمكن إحتساب كمية الكلوتامين والأسباراجين بواسطة تحديد كمية الأمونيا الناتجة من التحلل. كما يعمل التحلل الحامضي على هدم وحدات التريبتوفان للببتيد. كما يفقد حامض الكلوتاميك جزيئة ماء ويتحول الى مركب حلقي يدعى حامض بايروليدون –5– كاربوكسيليك pyrrolidone-5- carboxylic acid.

ب – التحلل القاعدي **Alkaline hydrolysis**

تستخدم هذه الطريقة لتحديد التريبتوفان الذي لايتأثر بالتحلل القاعدي. حيث تعامل عينة بيبتيدية اخرى مع 2N NaOH ، وفي هذه الحالة فإن أحماضاً أمينية عديدة تتحطم ، غير ان التريبتوفان يبقى مصوناً.

ج – التحلل الانزيمي **Enzymatic hydrolysis**

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

فصل الأحماض الأمينية وتشخيصها

Separation and identification of amino acids

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

الكروماتوكرافي **Chyomatography**

تشمل تقنية الكروماتوكرافي على أنواع عديدة تتضمن كروماتوكرافيا : الورقي Paper chromatography ، الطبقة الرقيقة Thin layer chromatog raphy (TLC) ، العمود Column chromatography ، التبادل الأيوني Ion exchange chromatog raphy ، الترشيح الهلامي Gelfiltration ، الغاز– السائل Gas chromatography (GLPC) ، كروماتوكرافيا السائل ذو الضغط العالي High pressure liquid chromatography وكروماتوكرافيا الإلفة Affinity chromatoyraphy .

تستخدم تقنية الكروماتوكرافي في فصل مركبات مختلفة. إن الانواع العديدة للكروماتوكرافي تعتمد جميعاً في قابليتها للفصل ، على مبدأ واحد ، هو مبدأ التقسيم

المجزئ ، بين طورين two phases ، احدهما ثابتا stationary والاخر متحركا (متزلقا)

mobile ، وهذا يسمح للمركبات المختلفة ان تنفصل عن بعض إعتماداً على معامل التقسيم partition coefficient ، الخاص بكل منها وعلى درجة (مدى) ذوبانها في كل من الطور الثابت والمتحرك. وغالباً مايكون الطور المتحرك، مذيباً معيناً أو نظام لمزيج مذيبات Solvent system ملائم. وتستخدم مادة ساندة (مدعمة) supporting medium وتكون خاملة، وذلك كوسط تتم عليه عملية الفصل.

وبعد عملية الفصل يعامل الوسط الساند بمادة ملونة، لغرض تحديد مواقع المركبات المفصولة، أو قد يستخدم مصباح الأشعة فوق البنفسجية أو غيرها من الوسائل لهذا الغرض.

الكروماتوكرافيا الورقي Paper chromatography

يستخدم الكروماتوكرافيا الورقي في فصل كثير من المركبات العضوية ومن ضمنها الاحماض الامينية والسكريات. ان مبدأ الفصل التجزيئي ينطبق على عملية الفصل الكروماتوكرافي الورقي (للاحماض الامينية مثلاً) بوساطة ورق الترشيح الذي يتكون من الياف سيليلوزية متميأة.

فعندما يصعد المذيب او نظام المذيبات الحاوي على خليط الاحماض الامينية عمودياً في الورقة، ascending chromatagraphy بواسطة الظاهرة الشعرية او ينحدر الى اسفل في عملية الفصل الكروماتوكرافي المنحدر، descending chromatography.

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

ويمكن اجراء عملية الفصل الكروماتوكرافي باتجاهين مختلفين two dimensional chromatoyraphy وعلى مربع ورق الترشيح باستعمال مذيبين مختلفين او نظامي مذيبات مختلفة وتكون نتيجة ذلك صورة ذات اتجاهين للاحماض الامينية المختلفة. ولكي يتم تعين موقع كل حامض اميني على الورقة الكروماتوكرافية ذات البعد الواحد، او ذات البعدين. ترش الورقة بمحلول 0.5% من النهايدرين المذاب في الاسيتون، وبعدها تجفف الورقة تحت درجة حرارة تتراوح مابين 90 – 110 درجة مئوية. وتستخدم نماذج من الاحماض الامينية المعروفة كدليل للاحماض الامينية المجهولة. إن النسبة بين المسافة التي [illegible] R_F. ان لكل حامض اميني قيمة R_F عند استخدام مذيب معين، وبهذه الطريقة يمكن فصل وتشخيص الحامض الاميني المجهول في الخليط.

كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة Thin – Layer chromatography

إن مبدأ الفصل التجزيئي ينطبق على عملية الفصل بوساطة كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة. وهذه الطريقة شبيهة بطريقة كروماتوكرافيا الورقي. حيث تستخدم مادة خاملة inert ، مدمصة adsorbent مثل هلام السيليكا أو النشا ، كمادةساندة (حيث يادمص adsorhed الطور المائي الثابت بهذه المادة الساندة بقوة أكبر) بشكل طبقة رقيقة thin layer مفروشة على صفيحة زجاجية أو غيرها وتستخدم في هذه الحالة الانظمة المذيبة Solvent System التي تعد الطور المتحرك mobile phase . ويستخدم نفس الاسلوب في قياس R_F (سرعة السريان) للمركبات المفصولة.

كروماتوكرافيا عمود الفصل Column chromatoyraphy

تستخدم طريقة الفصل الكوماتوكرافي التجزيئي باستخدام عمود زجاجي طويل رصت فيه حبيبات من مواد خاملة كاربوهيدراتية كالنشأ او السيليولوز. وتحوي كل حبيبة على طبقة ماء متماسكة بشدة تستخدم كطور مائي ثابت Stationary Phase عند مرور المذيبات الى اسفل العمود بواسطة الجاذبية ، تتحرك الاحماض الامينية في الخليط الى اسفل العمود بنسب مختلفة معتمدة على مكافيء الفصل التجزيئي لها بين الطور المتحرك والطور الثابت. ويجمع السائل الذي يترشح من اسفل العمود eluate بواسطة جهاز تجميع الأجزاء التلقائي Fraction collecter ثم تعامل كلاً من هذه الأجزاء مع الكاشف ننهايدرين ،والمعقد الناتج ذو لون بنفسجي يمتص الضوء في جهاز المطياف Spectrophotometer عند طول موجي 570 نانوميراً . وبهذه الطريقة يمكن احتساب تركيز الحامض الاميني المجهول بدلالة تركيز الحامض الاميني المعلوم بالطرق الحسابية البسيطة المعروفة.

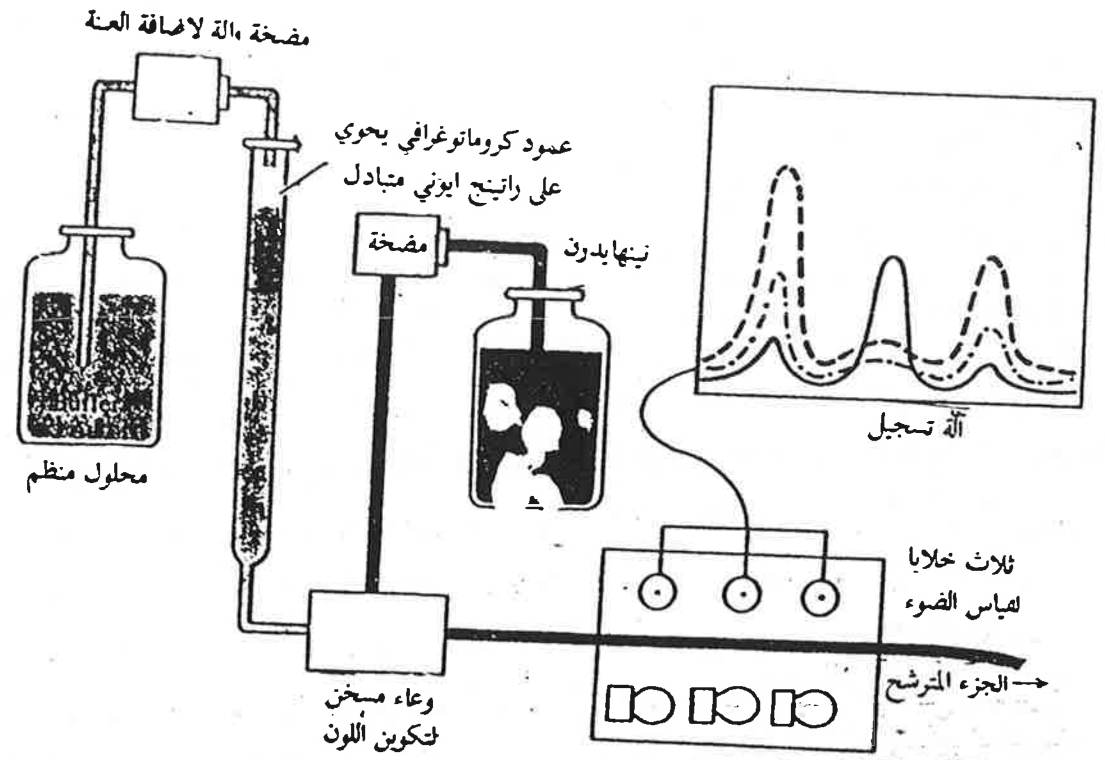
كروماتوكرافيا التبادل الأيوني Ion exchange chromatography

إن طريقة الفصل هذه تعتمد أيضاً على مبدأ كروماتوكرافي التقسيم. حيث يستخدم الطور الثابت بشكل راتنج وهو عبارة عن مادة بوليمرية مصنعة مثل بولي ستايرين Polystyrene أو سيليوز او غيرها. ويكون الطور الثابت هذا على نوعين احدهما ، مرتبطاً بمجاميع حامضية فعّالة مثل $-COO^-, -SO_3^-$ متحدة مع أيونات موجبة قابلة للتبادل exchangeable ion مثل H^+ أو Na^+ ، ويطلق على الطور الثابت هذا بالمبادل

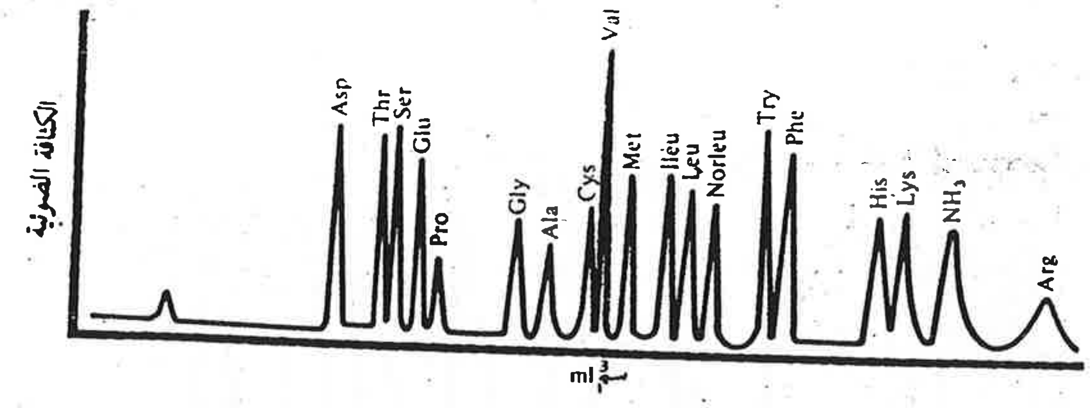
بمجاميع قاعدية فعّالة مثل $(CH_3)_3N^+$ – متحدة مع أيونات سالبة قابلة للتبادل مثل Cl^- أو OH^- ، ويطلق عليه بالمبادل الأيوني السالب Anion exchange . مثلاً ، عندما يتبادل الجزيء (الأيون) المعين الذي يمتلك شحنة واحدة موجبة أو اكثر مع مجموعة أخرى موجبة الشحنة ومتحدة أيونياً مع الطور الثابت السالب ، فإنه يطلق على هذه العملية بالتبادل الأيوني الموجب Cation exchange . وتعتمد طريقة الفصل هذه على مدى إلفة الجزيئات ذات الشحنة لمحلول ما ، نحو الإرتباط بالطور الأيوني الثابت.

وغالباً ماتستخدم طريقة كروماتوكرافيا التبادل الأيوني لفصل وتقدير الأحماض الأمينية في سلاسل متعدد البيتيد بعد التحلل.

وهناك جهاز مبرمج يسمى محلل الاحماض الامينية التلقائي automated amino acid analyzer يستخدم غالباً لهذا الغرض. ويشتمل هذا الجهاز على عمود يحتوي على راتنج مبادل ايوني موجب مشحون بـ Na^+ حيث يوضع المحلول الحامضي PH3.0 لخليط الاحماض الامينية على السطح العلوي من الراتنج ثم يمرر محلول منظم 3.0 PH ليترشح خلال العمود. وتكون الاحماض الامينية غالباً ايونات موجبة عند الرقم الهيدروجيني 3.0 ، حيث تختلف شحناتها الموجبة في مدى تأينها. وهكذا فالاحماض الامينية الموجبة تزيح ايونات الصوديوم Na^+ وتتحد مع الراتنج. وعند الرقم الهيدروجيني 3.0 فان معظم الاحماض الامينية القاعدية (لايسين. ارجينين. هيستدين تكون موجبة الشحنة ..) تكون الاولى في ازاحة ايونات الصوديوم والاتحاد مع الراتنج بقوة. بينما تتحد الأحماض الامينية الحامضية بعدئذ وبقوة اقل ... وبهذا فالاحماض الامينية المختلفة تسير الى اسفل عمود الراتنج بسرعات مختلفة ويجمع اجزاء السائل المترشح eluate الذي يمزج مع محلول النينهايدون آلياً. ثم يقدر اللون الناتج بدلالة الامتصاص وذلك بوساطة المطياف. Photometer . ثم تسجل النتائج بوساطة الة التسجيل recorder بشكل بياني يبين الامتصاص مقابل الجزء المترشح. وحيث ان الزمن المستغرق لنزول (ترشيح) الحامض الاميني المعين يكون خاصاً بذلك الحامض الاميني ، وان مقدار الامتصاص له علاقة مباشرة بكمية الحامض الاميني المترشح ، لذا فان الرسم البياني لآلة التسجيل يشير مباشرة الى نوع ونسب الاحماض الامينية الموجودة (شكل 5 — 18) . وحالما يتحدد الوزن الجزيئي التقريبي للبروتين (باستعمال احدى الطرق المبينة انفاً في هذا الفصل) يكون بالامكان تحويل الكميات النسبية للاحماض الامينية الى اعداد مطلقة.



مكونات الجهاز الآلي المحلل لمزيج الاحماض الامينية



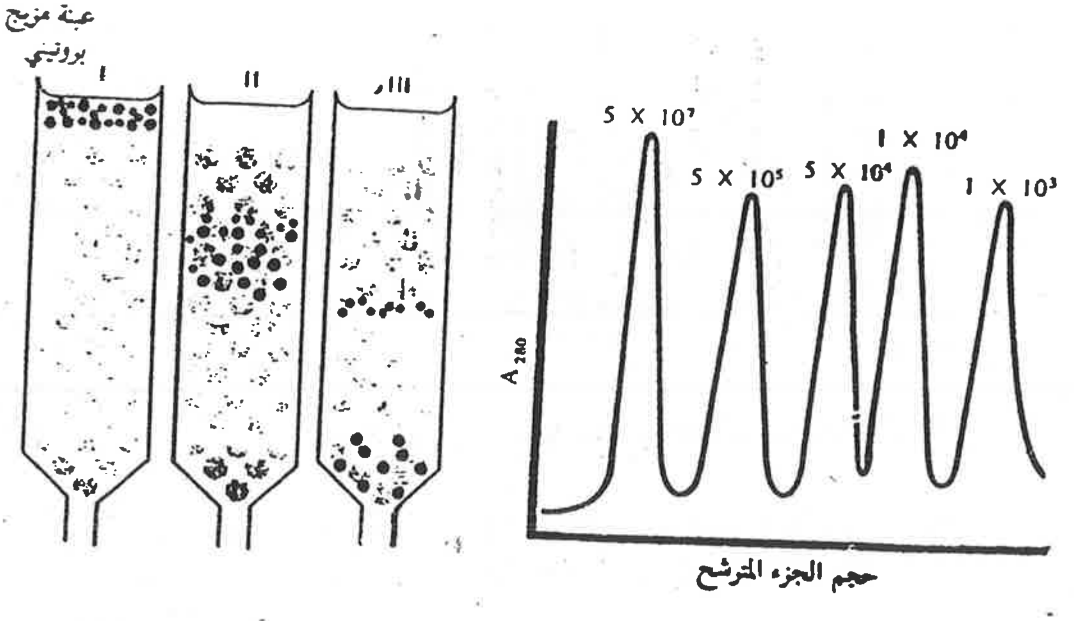
رسم بياني للتحليل الكروماتوغرافي لمزيج من الاحماض الامينية

شكل 5–14 جهاز تلقائي (آلي) لتحليل الأحماض الأمينية يبين الشكل الأجزاء الرئيسية للجهاز كما يبين أيضاً الشكل البياني للأحماض الأمينية التي فصلت بهذه الطريقة وفيه تشير المساحة الموجودة تحت كل قمة الى الكمية النسبية لذلك الحامض الأميني الموجود في الخليط.

Gel filtration

كروماتوكرافيا الترشيح الهلامي

كروماتوكرافيا الترشيح الهلامي ويسمى ايضاً كروماتوكرافيا الغربال الجزيئي Molecular sieve chromatography أو كروماتوكرافيا الاستبعاد الجزيئي molecular exclusion chromatography . ويستعمل في هذه الطريقة دقائق ذو مسامية معينة ، منتفخة (محبة للماء) ، تدعى هلام gel . مثل هلام الديكستران dextran (سيفاديكسي Sephadex أو أكاروز Agarose والذي هو مشتقات لمتعدد سكريات ، أو هلام بايوجيل Bio – gel الذي هو مشتقات متعدد أكرايل أميد Polyacryl amide . وتحضر جميعاً بدرجات مختلفة من المسامية . وتعتمد طريقة الفصل هذه على الحجم الجزيئي لمركبات المزيج المعين. حيث أنه بعد تعبئة عمود الفصل بالهلام المحدد ، ثم إضافة محلول لمزيج بروتينات مثلاً ، الى اعلى العمود ، فإن الجزيئات الكبيرة لاتستطيع إختراق (أو النفوذ) مسامات دقائق الهلام ، وإنما تمر بسهولة من بين هذه الدقائق ، وتترشح أولاً من العمود . أما الجزيئات الأصغر فإنها تنفذ الى داخل مسامات (الفراغات البينية في كل دقائق) الهلام مما يؤدي الى إعاقتها من النزول بسرعة ، وبذلك تترشح من عمود الفصل بعد الجزيئات الكبيرة. وتستخدم هذه الطريقة أيضاً لتقدير الوزن الجزيئي للبروتينات . حيث تستخدم بروتينات ذو أوزان جزيئية معلومة في نفس التجربة لهذا الغرض. شكل (15–5)) .

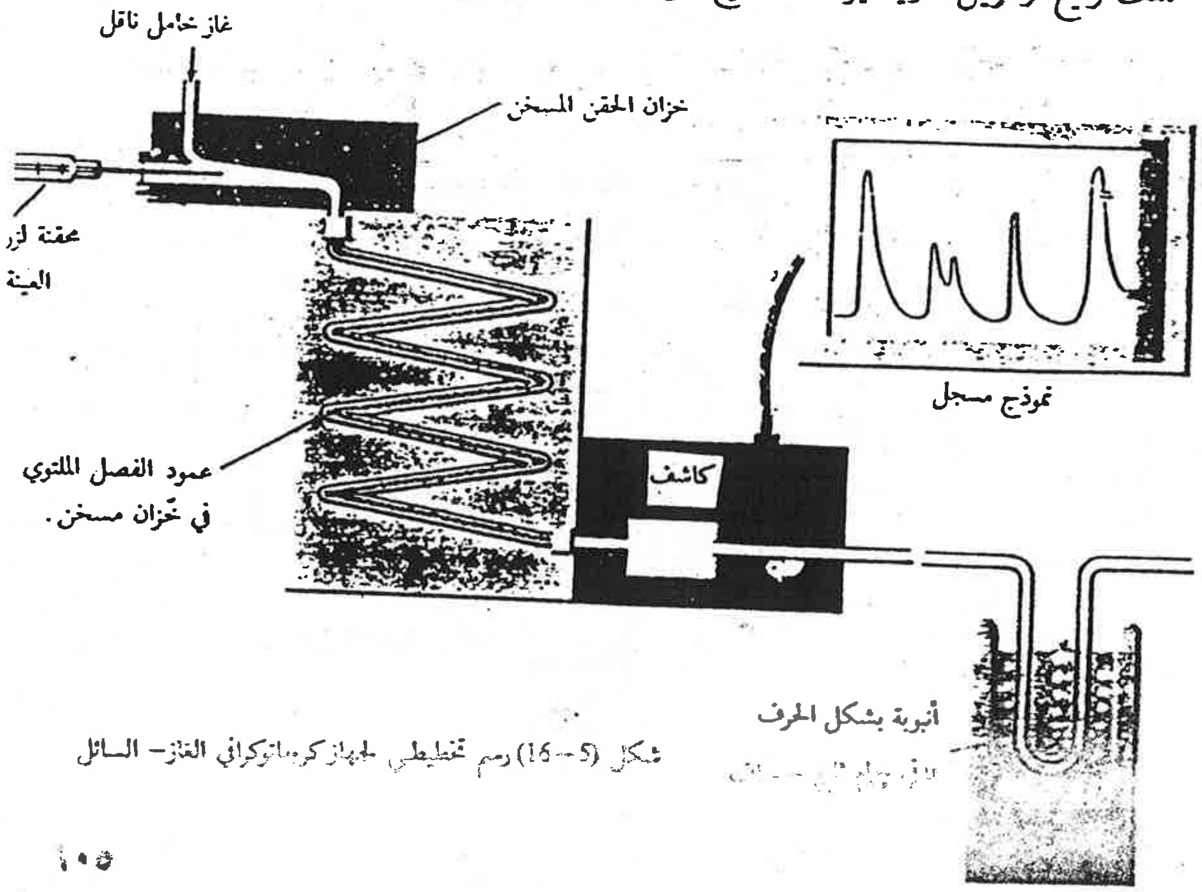


شكل (15–5) : الأشكال I-II-III تبين مراحل فصل عينة لمزيج بروتيني ذي احجام جزيئية مختلفة. كما ان الشكل [illegible]

Gas liquid partition chromatography كروماتوكرافيا الغاز– السائل

وهي من الطرق الاخرى الجيدة لفصل مزيجات لمركبات عضوية مختلفة، مثل الاحماض الأمينية والأحماض الدهنية والستيرويدات وغيرها. حيث يعبأ عمود الفصل بوسط ساند، خامل، مثلا، حبيبات زجاجية صغيرة جداً. وتكون دقائق هذا الوسط الساند مطلية بمادة ملائمة للفصل مثل بولي إيثيلين كلايكول Polyethylene glycole (كاربوواكس Carbowax) أو زيت البارافين Paraffin oil أو غيرها، والتي تبقى سائلة، لاتتبخر في درجة حرارة العمود المتراوحة بين 175 – 240 م° خلال عملية فصل المركبات، وهذه المادة تمثل الطور الثابت. حيث تحقن عينة مزيج المركبات القابلة للتبخر في جهاز كروماتوكرافيا الغاز (شكل 5–16) مع إمرار غاز حامل مثل النتروجين، الذي يمثل الطور المتحرك. وبالتسخين فإن مزيج المركبات المتبخرة تنفصل عن بعض إعتماداً على معامل التقسيم، الخاص بكل مركب وعلى درجة (مدى) ذوبانه في كل من الطور الثابت والمتحرك.

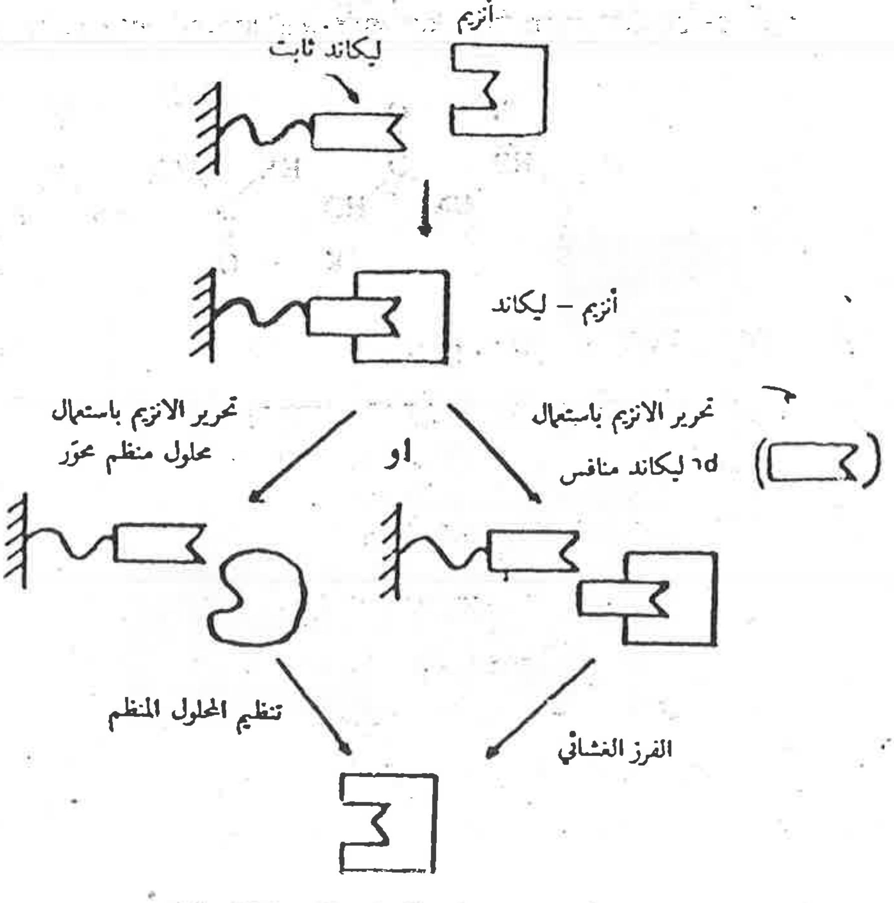
وفي كروماتوكرافيا السائل ذو الضغط العالي، High pressure liquid chromatography، يعتمد فصل مزيج المركبات على مبدأ التقسيم Partition ايضاً. يتطلب هذا النوع من الفصل إستخدام ضغط عالٍ لدفع (الطور المتحرك) خلال عمود ملتف رفيع وطويل. ويتميز هذا النوع من الكروماتوكرافي بقدرة كبيرة على الفصل.



شكل (5—16) رسم تخطيطي لجهاز كروماتوكرافي الغاز– السائل

كروماتوكرافيا الإلفة Affinity chromatography

هي طريقة حديثة لفصل بروتين أو أنزيم ما ، ذو خواص فيزياوية مشابهة لخواص بروتينات أخرى ، ويصعب فصله بطرق اخرى . وفي هذا النوع من الكروماتوكرافي يكون الوسط الساند ، اكاروز agarose مرتبطاً به ليكاندات ligands ثابتة ، لها تركيب مشابه لتركيب مادة الأساس substrate (أو لتركيب مثبط خاص) لذلك البروتين أو الأنزيم المراد فصله (تنقيته) . وتستطيع هذه الليكاندات بنفس الوقت بالارتباط بذلك البروتين أو الأنزيم المعين . يملأ عمود الفصل بالوسط الساند هذا ، ثم يوضع مزيج البروتينات على أعلى عمود الفصل . وبهذا فإن الليكاندات تمسك بالبروتين أو الأنزيم المعين ، بينما تمر بقية بروتينات المزيج خلال عمود الفصل ، ثم تاركة إياه بحرية تامة ؛ وهكذا يتم التخلص منها . ثم يحرر بعد ذلك البروتين أو الأنزيم المعين من عمود الفصل ، إما باستعمال محلول منظم ذو pH معينة deforming buffer يُحوّر ذلك البروتين أو الأنزيم المعين وقتياً ويجعله تاركا عمود الفصل ، حيث يمكن جمعه لوحده . أو باستخدام ليكاندات منافسة competitive counter ligands ، تعمل على إزاحة الليكاندات الأصلية المرتبط بها



البروتين أو الانزيم المعين وتجعلها تاركة عمود الفصل . ثم يتم بعد هذا فصل الليكاندات الأصلية عن البروتين أو الانزيم بوساطة الفرز الغشائي dialysis ليحصل على الاخير بصورة نقية (شكل 5 — 17).

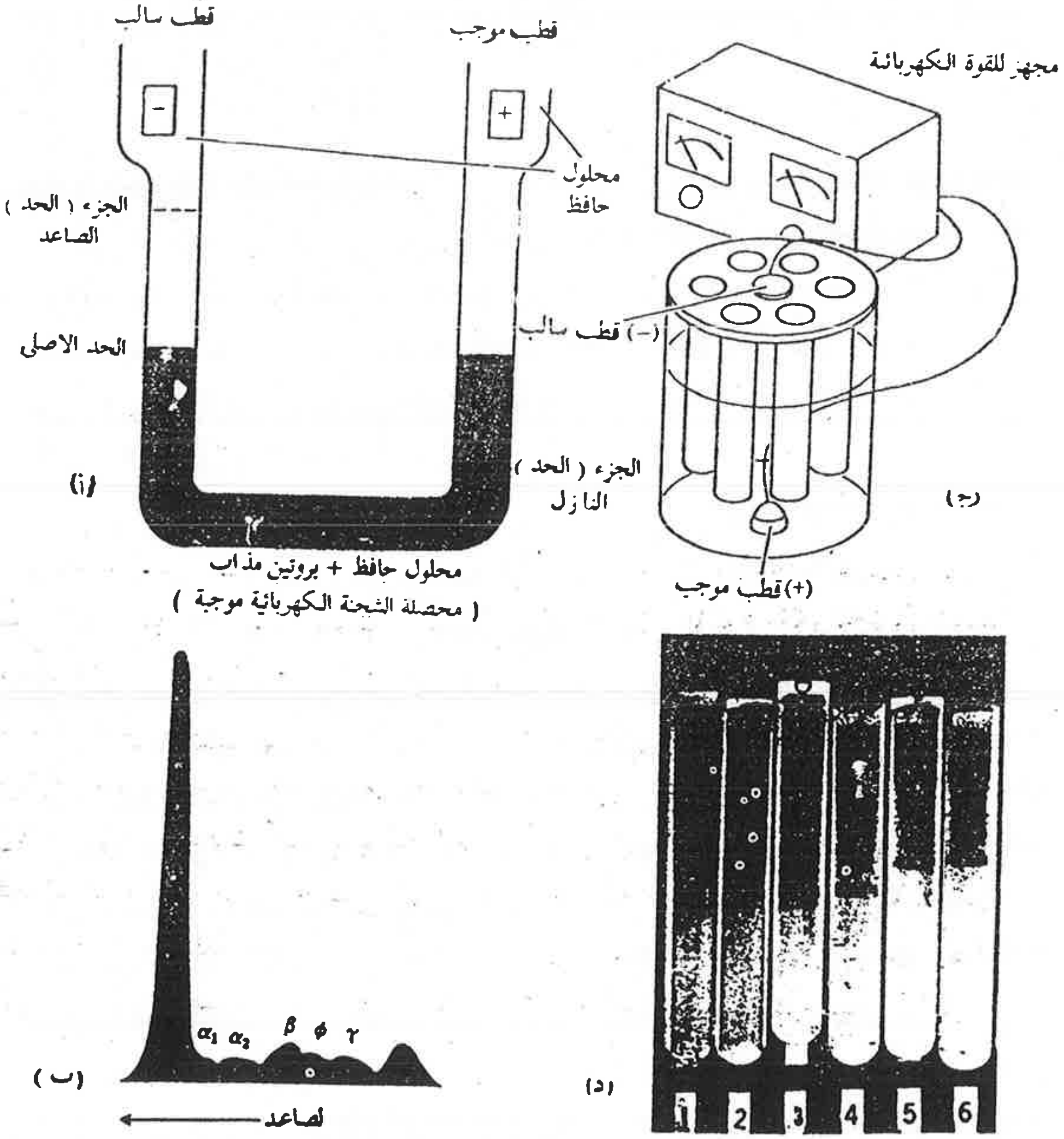
المجرة الكهربائية (الإستشراد) Electrophoresis

تعني المجرة الكهربائية ، تحرك المركبات الأيونية الذائبة نحو أحد القطبين ، في مجال كهربائي . ويستخدم هذا النوع من الفصل في تحليل البروتينات ، البيبتيدات ، الأحماض الأمينية وغيرها من المركبات . ويعتمد الفصل بالمجرة الكهربائية على محصلة الشحنة للمركب وعلى الرقم الهيدروجيني للوسط الذي تحدث فيه الهجرة وكذلك على الفولتية (الجهد الكهربائي) المستعملة .

وعند تسليط مجال كهربائي ذو فولتية عالية تتراوح بين 2000-5000 فولت ، لفترة تصل الى ساعتين أو أكثر ، يسمى هذا النوع من الفصل بالهجرة الكهربائية ذو جهد كهربائي عالٍ high voltage electrophoresis .

في حالة فصل محلول لمزيج من البروتينات مثلاً ، فإن هذه البروتينات تملك شحنة كهربائية وذلك بسبب إحتوائها على وحدات لأحماض أمينية ذات مجموعات وظيفية متأينة ، مما يجعلها تتحرك بإتجاه مغاير لشحنتها عند مرور التيار الكهربائي خلالها . وحيث ان مكونات البروتينات من الأحماض الأمينية تكون مختلفة ، لذا فإن البروتينات المختلفة تملك شحنات مختلفة سند الرقم الهيدروجيني المعين . وبذلك فإن سرع حركتها في المجال الكهربائي تكون مختلفة . وباستخدام طرق بصرية ملائمة يمكن تحديد عدد البروتينات الموجودة في المحلول وكذلك متابعة سرع حركتها المختلفة في المجال الكهربائي .

وقد حدثت تحويرات لتقنية المجرة الكهربائية (الاستشراد) حيث يستعمل وسط ساند للبروتين مثل النشأ أو الورق أو هلام خامل . وبهذه الحالة فإن عينة البروتين توضع على الوسط الساند بشكل بقعة صغيرة . وعند إمرار التيار الكهربائي لمدة كافية فإن هذه العينة ستنفصل الى مكوناتها . وبعدها يعامل الوسط الساند بمادة صبغية ملوّنة للبروتين ، وبهذا يمكن تمييز عدد البروتينات الموجودة في تلك العينة . وهناك تحوير أخر لهذه التقنية ، حيث يسمح لعينة البروتين بالحركة في أنبوبة تحوي على هلام أكرايل أميد acrylamide ، كوسط مساند وباستخدام مجال كهربائي . شكل (5-18).



شكل (5-18) (أ) مخطط للهجرة الكهربائية في عمود من السائل (هجرة الحدود الكهربائية). (ب) مخطط الهجرة الكهربائية لبروتينات بلازما الدم. (جـ) مخطط لجهاز الهجرة الكهربائية باستخدام هلام البولي اكريل اميد. (د) صورة لمستخلص نسيج معوي مستخدم كعينة بروتينية في تقنية الهجرة الكهربائية باستخدام هلام البولي اكريل اميد - ، لغرض بيان فصل (وتنقية) مكونات العينة البروتينية.

الهجرة الكهربائية بإستخدام صوديوم دودبكايل سلفات

Electrophoresis in sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE)

تستخدم هذه الطريقة لغرض فصل وتحديد الوزن الجزيئي للسلاسل الببتيدية (الوحدات الثانوية subunit) التي تؤلف جزيئات بروتين ما. وتتضمن هذه الطريقة، تسخين البروتين مع محلول صوديوم دودبكايل سلفات SDS (وهو من المنظفات سالبة الشحنة anionic detergent) وبوجود احدى مركبات الثايول، وذلك لإختزال الأواصر ثنائية الكبريت. وبهذا تنفصل السلاسل الببتيدية لجزيئات ذلك البروتين، عن بعض. كما أن كلاً من هذه السلاسل الببتيدية، تتحد مع كمية كبيرة من ال SDS، مما يكسبها جميعاً محصلة شحنة سالبة قوية. وبهذا فإن سرعة حركة كل، معقد سلسلة ببتيدية — SDS، فوق هلام بولي أكرايل أميد، نحو القطب الموجب في المجال الكهربائي، تعتمد على مبدأ الترشيح الهلامي إلى حد كبير إضافة الى مبدأ الجذب الكهربائي.

وهكذا فان هناك علاقة بين الوزن الجزيئي للوحدات البروتينية وبين سرعة حركتها خلال عملية الفصل هذه. وعند استخدام عينات بروتينية ذات أوزان جزيئية معلومة، كمؤشرات، فإنه يصبح بالإمكان فصل وتحديد الوزن الجزيئي لوحدات ذلك البروتين.

بؤرة التعادل الكهربائي Isoelectric focusing

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

فعند وضع قطرة من العينة على سطح المادة الهلامية المحضرة بمدى واسع من محلول منظم (متدرج في قيم ال PH)، فإن كل حامض أميني يتحرك تحت تأثير التيار الكهربائي، متوقفاً في منطقة ذو PH مطابقة لنقطة التعادل الكهربائي العائدة له. إن الأحماض الأمينية وكذلك البروتينات التي لها نقاط تعادل مختلفة، يمكن فصلها بسهولة بوساطة تقنية بؤرة التعادل الكهربائي.

الاهمية البايولوجية لتسلسل الاحماض الامينية

Biological significance of amino acid sequence

إن معرفة عدد الاحماض الأمينية وتسلسلها في متعدد الببتيد (البروتين) لمن الموضوعات المهمة في الكيمياء الحياتية. إن هذه الاهمية تكمن في النقاط الاتية :

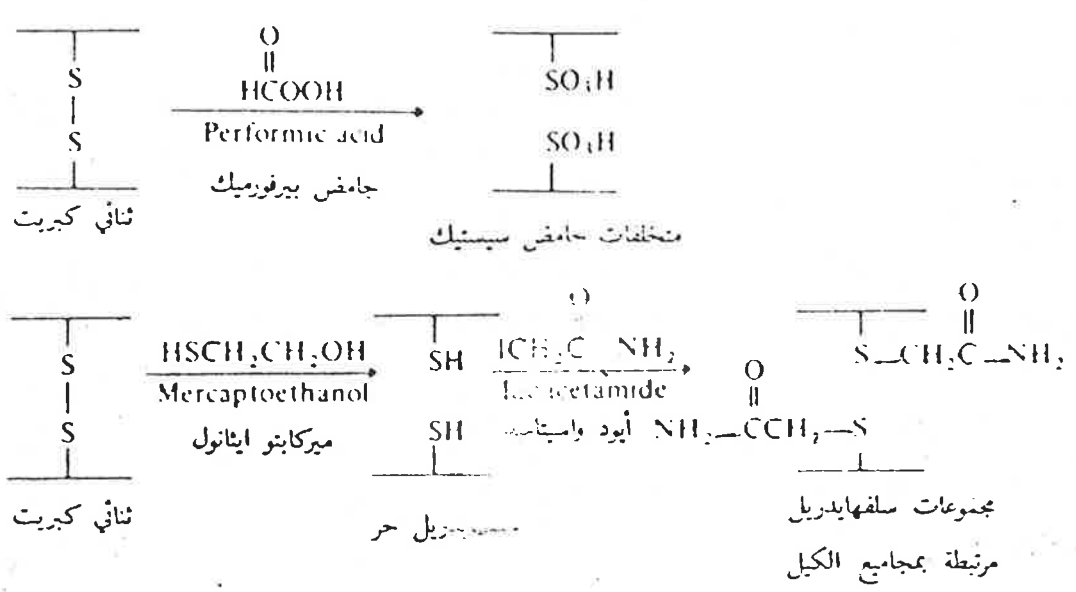
1- عند معرفة عدد وتسلسل الاحماض الامينية في متعدد الببتيد المستخلص من المصادر الطبيعية ، فانه بالامكان تصنيع ذلك الببتيد بطريقة كيمياوية في المختبر حيث يكون بالامكان تصنيع اي بروتين كيمياوياً لاغراض صناعية او طبية...

2- من دراسة فقر الدم الهلالي (المنجلي) Sickle cell anemia ، وهو عبارة عن مرض وراثي ناجم عن طفرة وراثية ادت الى استبدال وحدة الحامض الاميني الطبيعي كلوتاميك في الموقع 6 من السلسلة بيتا لجزيئة الهيموكلوبين السليمة عند البالغين والذي يعبر عنه (HbA) ، بوحدة الحامض الاميني ڤالين Valine ، فينتج عن هذا الاستبدال بأن تأخذ كريات الدم الحمراء شكلاً منجلياً او هلالياً Sickle ويعبر عنه بـ (HbS). وتتميز كرية الدم المريضة HbS بقلة استيعابها للاوكسجين عندما تتحد به مقارنة بكرية الدم الحمراء الطبيعية HbA. اذن فمعرفة عدد الاحماض الامينية لجزيئة الهيموكلوبين وتسلسلها ادخلت علماً جديداً لمعرفة تسلسل الاحماض الامينية للبروتينات الاخرى في الجسم.

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

فصل السلاسل الببتيدية المكونة لجزيئ البروتين

عند تطبيق احدى الطرق آنفة الذكر لتشخيص متخلفات الاحماض الامينية ذات النهاية NH_2 او CO_2H، يمكن بهذا معرفة عدد السلاسل الببتيدية المكونة لذلك الجزيئ من البروتين.وبهذه الحالة ينبغي فصل السلاسل الببتيدية كلا على حدة قبل اجراء عملية تحديد تسلسل متخلفات الاحماض الامينية لهذا البروتين.ان الاصرة الثنائية الكبريت للسايستين cystine التي تربط بين جزئي سلسلة ببتيدية واحدة او بين سلسلتين ببتيديتين مختلفتين. (شكل 5-19) يمكن فصمها بوساطة الاكسدة او الاختزال. وعند اختزال الآصرة ثنائية الكبريت، فانه ينبغي ألكلة مجاميع الـ SH الناتجة، كي يمنع هذا من التأكسد التلقائي الى الشكل ثنائي الكبريت مرة اخرى.



شكل (5–19) انفصام آصرة ثنائي الكب... في البروتين

تحديد تسلسل (تعاقب) الاحماض الامينية في ... متعدد الببتيدات

Determination of amino acid sequence of polypeptide chains

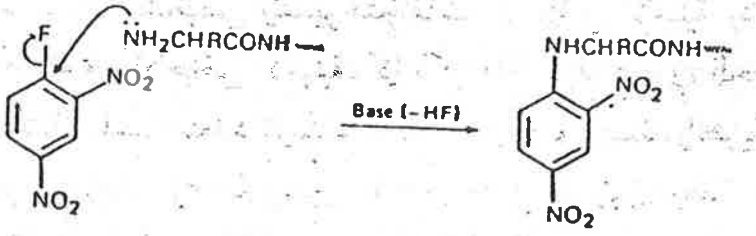
ان الترتيب المتعاقب لمتخلفات الاحماض الامينية في بروتين ما amino acid sequence، يشير الى التركيب الاولي للبروتين. ولتحديد تسلسل الاحماض الامينية في بروتين ما، يتطلب اولاً تشخيص وتقدير متخلفات الاحماض الامينية وذلك بعد تحليل البروتين الى مكوناته من الاحماض الامينية، كما ذكر هذا سابقاً. ثم تأتي الخطوة التالية لهذا الغرض وهي تجزئة سلسلة متعدد الببتيد الكاملة الى قطع أصغر. والطريقة المختارة هي التحليل الانزيمي باستعمال انزيم التريبسين trypsin المحلل للبروتين. وهذا الانزيم يحفز فقط تحلل الاواصر الببتيدية التي تشارك فيها متخلفات اللايسين او الارجنين بمجموعة كاربونيل. وبهذا يعرف عدد القطع الناتجة عن التحلل بوساطة التريبسين من العدد الكلي لمتخلف اللايسين او الارجنين في السلسلة. علاوة على ذلك فان جميع القطع الناتجة عن الانفلاق بوساطة التريبسين. تحتوي على متخلفات اللايسين او الارجنين عند موقع النهاية الكاربوكسيلية. ويمكن بعد ذلك فصل هذه القطع عن بعض بوساطة تقنية الهجرة الكهربائية (الاليكتروفوريسيس) مثلاً. ثم تحلل كل من هذه القطع وتحدد محتوياتها من الاحماض الامينية.

الاصلية، يؤخذ نموذج اخر من متعدد الببتيد ويفصل الى قطع اخرى وذلك باستعمال

انزيمات محللة للبروتين اخرى، مثل كيموتريبسين chymotrypsin الذي يحلل الاواصر البيبتيدية التي يكون فيها الفينايل الانين والتريبتوفان والتايروسين مساهمة في مجموعة الكاربونيل.

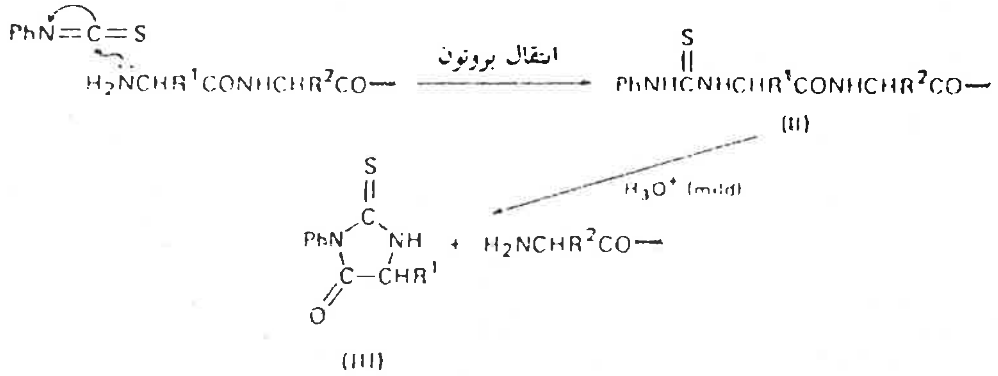
ثم يعقب هذا عملية تحليل (تشخيص) متخلفات النهاية الامينية والنهاية الكاربوكسيلية لسلسلة متعدد الببتيد. ان تحليل متخلف الحامض الاميني ذي النهاية الكاربوكسيلية يمكن ان يتم بوساطة الانزيم كاربوكسي ببتيديس carboxypeptidase الذي يتخصص بفلق متخلف الحامض الاميني ذي النهاية الكاربوكسيلية عن البروتين. ثم يتم تشخيص هذا الحامض الاميني وبالامكان اعادة هذه العملية على ماتبقى من سلسلة متعدد الببتيد لفصل الحامض الاميني المجاور وهكذا... حتى يكمل فصل وتشخيص الاحماض الامينية المكونة لتلك السلسلة.

كما يمكن تحليل متخلف الحامض الاميني ذا النهاية الامينية باستخدام طريقة سانكر Sanger وهذه كما بينا سابقاً بانها تشمل تفاعل مجموعة NH_2 مع المركب 4,2 ثنائي نيتروفلوروبنزين (شكل 5 – 10 . 5 – 20). ثم يعقب هذا تحلل للبروتين فينتج مزيجاً من الاحماض الامينية التي يكون احدها مرتبطاً بالمركب ثنائي نتروبنزين حيث يكون هو الحامض الاميني ذا النهاية الامينية في السلسلة الببتيدية.



شكل(5-20) تفاعل نهاية الببتيد مع ثنائي نتروفلوروبنزين

وهناك طريقة سائدة اخرى لتحليل متخلف الحامض الاميني ذي النهاية NH_2 في السلسلة الببتيدية، وهي الطريقة التي استخدمها العالم ادمان Edman. وهذه تتضمن التفاعل مع فينايل ايزوثايوسيانيت PhNCS phenylisothiocyanate حيث يكون ناتج التفاعل ثايويوريا thiourea (II). الذي يتحلل بسهولة ليعطي المركب المسمى فينايل ثايوهايدانتوين (III) phenylthiohydantoin، تحت ظروف لايمكن فيها تحلل بقية البروتين (شكل 5 – 21).ويمكن انجاز هذه العملية بطريقة آلية، حيث يشخص [illegible] تدور مرة اخرى العملية نفسها وهكذا.



شكل (5 – 21) طريقة ادمان في تعيين الحامض الاميني ذي النهاية NH_2 في سلسلة متعدد الببتيد

وبالرغم من انه يمكن تكرار طريقة كاربوكس ببتيديس وطريقة فينيل ايزوثايوسيانيت نظرياً لمعرفة تعاقب الاحماض الامينية في البروتين. لكنه عملياً؛ تطبق هذه الطريقة فقط لمعرفة التعاقب في سلاسل مكونة من عشر الى عشرين وحدة من الاحماض الامينية. ولهذا يعرض البروتين اولاً الى عملية تحلل جزئي. وهذه يمكن انجازها باستعمال حامض معدني تحت ظروف اقل شدة من تلك المتبعة في عملية التحلل الكلي. او باستعمال انزيمات متخصصة لفلق أواصر ببتيدية مجاورة لمتخلفات احماض امينية معينة. وهكذا فان الببتيدات الناتجة تفصل عن بعض ثم تنقى، ويحدد تعاقب كل منها. وبعدئذٍ تجمع هذه مع بعض، حيث تتداخل السلاسل القصيرة مع بعض متعاقبة كما هي عليه اصلاً (شكل 5 – 22).

ببتيد A H- Gly - Phe- Ser- Gly- Ala- OH

ببتيد B H- Gly - Ala- Val- Thr- Ser- OH

ببتيد C H- Thr Ser Gly Tyr- OH

المقطع البروتيني H-Gly- Phe- Ser- Gly- Ala- Val- Thr- Ser- Gly- Tyr- OH

شكل (5 – 22) استنتاج التعاقب الكامل للبروتين بتداخل السلاسل القصيرة الناتجة من التحلل الجزئي

ويمكن معرفة تعاقب الاحماض الامينية في سلاسل الببتيدات القصيرة ايضاً بوساطة قياس طيف الكتلة mass spectrometry. حيث يحول الببتيد الى مشتق المثيل العائد له (بدون اواصر NH او OH، لايوجد تآصر هيدروجيني) وبهذا يصبح مادة طيارة. بعدها يوضع في جهاز مطياف الكتلة ويتأين، حيث يفقد على التوالي اجزاء من طرف النهاية C [illegible]

للببتيد.

$H_2NCH(CH_3)CONHCH_2CONHCH(CH_2\,Ph)\,COOH$

↓ (i) CH_3OH/H^+
(ii) CH_3COCl / قاعدة
(iii) CH_3I / قاعدة

$CH_3CON(CH_3)CH(CH_3)CON(CH_3)CH_2CON(CH_3)\,CH(CH_2\,Ph)COOCH_3$

43 85 71 161 31 (كتل)

↓ جهاز قياس طيف الكتلة

m/e	الايونات الرئيسية لوحظت عند				
391	ايون جزيئي M (43 + 85 + 71 + 161 + 31)				
360	M	31			
199	M	31	161		
28	M	31	161	71	

شكل (5 – 23) ايجاد تعاقب الببتيدات بمطياف الكتلة

Proteins

البروتينات

تؤلف البروتينات حوالي 50% من وزن الخلية الجافة. وهي ذات اوزان جزيئية عالية. وتتصف البروتينات بعدم نفاذها خلال الاغشية النفوذية permeable membrane. وتحوي الخلية حوالي 3000 نوع من البروتينات المختلفة. والبروتينات تمثل صيغة المعلومات الوراثية المترجمة (اي الصيغة التي تُعبّر فيها العوامل الوراثية ...). والبروتينات عبارة عن بوليمرات Polymers جزيئية كبيرة تتألف من الاحماض الامينية – α – L المرتبطة مع بعض عبر الأواصر الببتيدية (شكل 5 – 12). ويحتوي اصغر جزيئ بروتيني على اكثر من 40 وحدة من هذه الاحماض الامينية. وتحتوي جزيئات البروتينات على بعض من الاحماض الامينة المتأينة المجموعات الوظيفية. وهذا مايجعل لمحاليل هذه البروتينات خواص

تصنع البروتينات بواسطة خلايا النبات ، من ثاني اوكسيد الكاربون ، الماء ، النترات الكبريتات والفوسفات وذلك عبر عملية التركيب الضوئي photosynthesis وعمليات اخرى. ويستطيع الحيوان تكوين كميات محددة من البروتين من مصادر غير عضوية بينما يعتمد على النبات او على حيوان اخر للحصول على غذائه من البروتين.

العناصر التي تدخل في تركيب البروتينات Elementary composition of proteins

معظم البروتينات الموجودة في الطبيعة تحوي خمسة عناصر مختلفة وهي كاربون هيدروجين ، اوكسجين ، نتروجين وكبريت . اما العناصر الاخرى مثل الفوسفور، اليود ، الحديد ، فان وجودها ضروري في بروتينات متخصصة معينة . الكاسئين casein مثلاً ، هو بروتين الحليب ويحتوي على الفوسفور ويعتبر مهماً جداً لتغذية الطفل. كما يعد اليود عنصراً اساسياً في بروتين الغدة الدرقية thyroid gland . اماهيموكلوبين Hemoglobin الدم الذي يكون ضرورياً لعملية التنفس ، فهو بروتين يحتوي على حديد . ان معدل النسب المئوية للعناصر الخمسة التي تدخل عادة في تركيب البروتينات وجدت على وجه التقريب كما يأتي :

العنصر	معدل النسبة المئوية
كاربون	53
هيدروجين	7
اوكسجين	23
نتروجين	16
كبريت	1

وتتميز البروتينات عن الكاربوهيدرات واللبيدات باحتوائها على كمية عالية نسبياً من النتروجين.

وظائف البروتينات proteins functions

للبروتينات وظائف مختلفة يمكن اجمالها بما يأتي :

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

2- عناصر تركيبية Structural elements

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

3- البروتينات الناقلة Transport proteins

هناك مركبات معينة يتم نقلها من نسيج الى آخر بواسطة بروتينات ناقلة. فعلى سبيل المثال يقوم البروتين هيموكلوبين بنقل الاوكسجين من الرئتين الى الانسجة المختلفة حيث يرتبط الاوكسجين بذرات الحديد الموجودة في مجاميع الهيم heme الاربعة في جزيئة الهيموكلوبين. ويتحد بروتين الالبومين albumin الموجود في مصل الدم مع الاحماض الدهنية الحرة free fatty acids فيتم نقلها بين الانسجة الدهنية والاعضاء الاخرى في الفقريات، وكذلك يقوم الألبومين بنقل مواد مختلفة اخرى مثل الهورمونات والأدوية . وهناك البروتين المسمى بيتا- لايبوبروتين $\beta-$Lipoprotein الموجود في الدم والذي يقوم بنقل الدهون عن طريق الدم .

4- هورمونات Hormones

هناك عدد من الهورمونات (الفصل 15) لها تركيب بروتيني . وعلى العموم فالهورمونات هي مركبات ، تفرز من الغدد الصماء ، وتعمل على تنظيم العمليات الحياتية في الجسم . مثل هورمون الانسولين Insulin يفرز من غدة البنكرياس ويقوم بتنظيم العمليات الحياتية لسكر الكلوكوز كما يحفز عملية هدم الدهون . وهورمون النمو Growth hormone الذي يفرز من الغدة النخامية الأمامية والذي ينظم عملية النمو والتكامل . وهورمون جنب الدرقية parathyroid hormone الذي ينظم العمليات الحياتية للكالسيوم والفوسفات .

5- عوامل دفاعية (وقائية) **Protective agents**

إن لبعض البروتينات وظائف دفاعية او وقائية ضد الڤايروسات Viruses والبكتريا الضارة. وتسمى هذه البروتينات بالبروتينات (الكلوبيولينات) المناعية -Immun

الغريبة التي تدخل الجسم والتي تدعى المستضدات antigenes وتعطلها عن عملها. وهناك الذيفانات (سموم) Toxins التي تنتجها بعض البكتريا والزعافات (سموم) Venoms التي تنتجها الأفاعي ، هي بروتينات دفاعية لهذه الكائنات.

6- البروتينات الخازنة **Storage proteins**

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

7- البروتينات المتقلصة **Contractile proteins**

تعمل بعض البروتينات كعناصر اساسية في التقلص contraction والانبساط relaxation واهم هذه البروتينات المعروفة ، أكتين Actin ومايوسين Myosin كعنصرين اساسيين للجهاز الحركي العضلي.

8- بروتينات لصيانة الضغط الأزموزي واس ايون الهيدروجين (pH)
Proteins for maintenance of osmotic pressure and pH

تؤدي بروتينات بلازما الدم ، وخصوصاً الألبومين ، دوراً مهماً في المحافظة على الضغط الأزموزي للخلايا النسيجية.حيث ان الضغط الأوزموزي (التنافذي) للألبومين يجهز (يهيىء) القوة الدافعة لعبور الماء والمواد الاخرى خلال الاغشية الخلوية ، وكذلك يعمل في المحافظة على ابقاء الرقم الهيدروجيني (الفصل الثاني) بالمعدل الطبيعي pH 7.4 .

9- تعمل البروتينات تحت ظروف معينة مصدراً للطاقة.

سلوك البروتينات Behavior of proteins

البروتينات جزيئات كبيرة الحجم ، تحمل شحنات كهربائية متعددة polyelec-trolytes ، وتمتلك خواص حامضية– قاعدية مزدوجة amphoteric (الفصل الثاني) وذلك بسبب احتوائها على متخلفات الاحماض الامينية المختلفة ذو المجموعات الوظيفية [illegible] البروتينات من بعض باختلاف [illegible] وبالتالي اختلاف طبيعة الشحنات الكهربائية التي تحملها تلك البروتينات.

تذوب البروتينات في المحاليل المائية مكونة محاليل جزيئية حقيقية true molecular solutions ، ويعزى ذلك لسبب التداخل interaction بين جزيئات الماء المستقطبة وبين المجاميع المتأينة للبروتين. وتتأثر ذوبانية البروتينات في المحاليل بعوامل : الرقم الهيدروجيني (pH) ، القوة الايونية ionic strength ، خواص العازل الكهربائي dielec-tric properties للمذيب.

ترسيب البروتينات Precepitation of Proteins

فيما يلي التقنيات الشائعة في ترسيب البروتينات من محاليها المائية. وعموماً يسهل ترسيب البروتينات عند نقطة التعادل الكهربائي PI لكل منها.

1– ترسيب البروتينات بواسطة الأملاح

تترسب البروتينات (الكروية) من المحاليل المائية بوجود تراكيز عالية من الاملاح المتعادلة ، وتدعى هذه الظاهرة (الترسيب بالتمليح) salting out. ومن اكثر قيم ال pH فعالية في عملية ال salting out هي نقطة التعادل الكهربائي للبروتين. وتكون املاح الأيونات الثنائية والثلاثية الشحنة اكثر فعالية في هذا المجال مقارنة باملاح الايونات احادية الشحنة. إن الأملاح التي تستعمل عادة لترسيب البروتينات هي كبريتات الامونيوم ، كبريتات الصوديوم وكلوريد المغنيسيوم. وان سبب ترسب البروتينات بوجود تراكيز ملحية عالية هو ان ايونات الاملاح تجذب حول نفسها جزيئات الماء القطبية ، تاركة جزيئات البروتين ، مما يؤدي الى اختزال ذوبانية البروتين وبالتالي ترسبه. ويمكن استخدام هذه الظاهرة على مراحل ، لتنقية وفصل البروتينات عن بعض. ومما يجدر ذكره بان التراكيز الواطئة من الاملاح المتعادلة تزيد ذوبانية بروتينات عديدة وتدعى هذه الظاهرة (الإذابة بالتمليح) salting in ويمكن تفسير مثل هذه الظاهرة الى التغيرات الحاصلة في قابلية التأين لمجاميع (R) القابلة للتفكك dissociable.

2– ترسيب البروتينات بمذيبات عضوية

تترسب البروتينات من المحاليل المائية بواسطة المذيبات العضوية مثل الأسيتون والكحول ؛ حيث تعمل كل من هذه المذيبات تآصر هيدروجيني مع جزيئات الماء ، مما يقلل التداخل الحاصل بين البروتين وجزيئات الماء (المذيب) ، ويؤدي بالتالي الى

ثابت عازل كهربائي dielectric constant ، قيمته اقل من ذلك للماء ؛ وبهذا فان اضافة كل منها الى المحلول البروتيني المائي ، يؤدي الى زيادة قوى التجاذب بين الشحنات المتعاكسة مما يقلل درجة تأين مجاميع R للبروتين ، وهذا يسبب تجمع (تكتل) جزيئات البروتين وترسبه . ويمكن فصل البروتينات عن بعض اعتماداً على قابلية ذوبانية كل بروتين في محاليل المزيجات الباردة من الكحول – ماء او اسيتون – ماء .

3– ترسيب البروتينات بالمواد الكاشفة الحامضية

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

4 – ترسيب البروتينات عند نقطة التعادل الكهربائي

تترسب البروتينات عند نقطة التعادل الكهربائي isoelectric point العائدة لها . حيث ان البروتين عند هذه النقطة (هذه الـ pH) يكون متعادل كهربائياً ، اي ان محصلة الشحنات الكهربائية التي يحملها تساوي صفراً ، وتكون قابلية ذوبان البروتين عند نقطة التعادل الكهربائي ، في ادناها . ويمكن فصل البروتينات التي تمتلك نقاط تعادل مختلفة عن بعض باستخدام هذه الطريقة ، على ان تتم المحافظة على درجة الحرارة والقوة الايونية ، خلال عملية الترسيب هذه .

الطرائق الشائعة للتقدير الكمي للبروتينات

عموماً ، لاتوجد طريقة مثلى لتقدير تركيز البروتين لأية عينة ، حيث ان اختيار الطريقة يعتمد على طبيعة البروتين والمكونات الاخرى الموجودة في العينة، وكذلك يعتمد على مقدار الرغبة في سرعة ، دقة وحساسية طريقة التقدير. وفيما يلي الطرق الشائعة المستخدمة في تقدير البروتين.

Kieldahl method

1- طريقة كيلدال

وتتضمن الطريقة هضم المادة البروتينية مع حامض الكبريتيك المركز بوجود ايون السيلينيوم او النحاس كعامل مساعد. فتتحول المواد النيتروجينية العضوية الى كبريتات الامونيوم الحامضية ، وهذه تعامل مع هيدروكسيد الصوديوم [illegible] التي تعامل مع محلول حامضي مثل HCl ، ذي تركيز معلوم. ومن هذه المعلومات يمكن معرفة وزن النتروجين في العينة. ولما كانت نسبة النتروجين في اي مادة بروتينية تعادل 16% ، لذا يمكن عندئذ استخراج وزن البروتين من حاصل ضرب $\frac{100}{16}$ (اي 6.25) في وزن النتروجين للعينة.

Direct spectrophotometric method

2- طريقة المطياف الضوئي

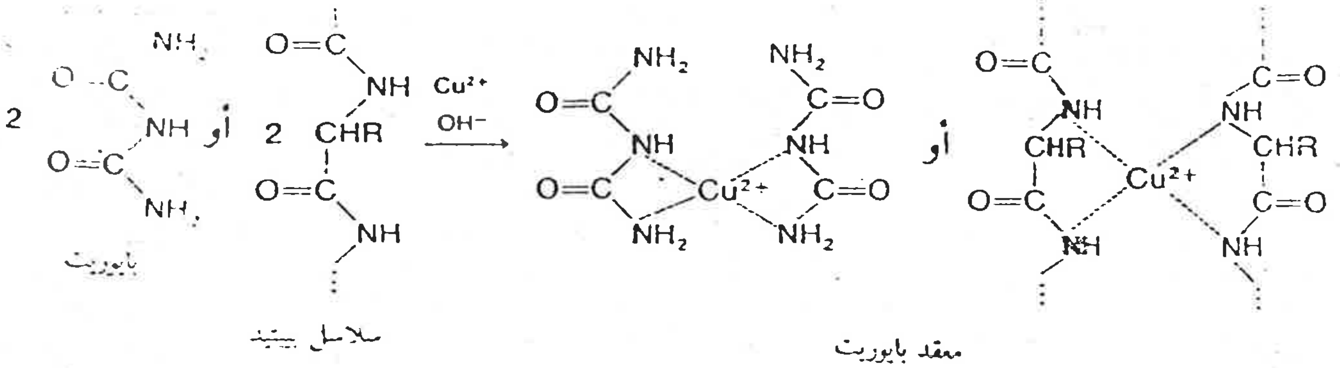
او طريقة ڤاربريك - كرستيان Warburg — christian method

ان وحدات التايروسين وتريبتوفان للبروتين تمتص الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 275 و 280nm على التوالي. وحيث ان مستوى هذين الحامضين الامينين عموماً ، يكون ثابتاً نسبياً في العديد من البروتينات. بهذا فإن تركيز البروتين (في المحاليل النقية) يتناسب عموماً مع مقدار الامتصاصية عند الطول الموجي 280 nm. وحيث ان عدداً من محاليل البروتينات النقية التي تحوي واحد ملغم بروتين لكل ميلي لتر (1.0mg protein /ml) تعطي امتصاص (A) قيمته 1.0 تقريباً عند الطول الموجي 280 nm وفي مسار ضوئي 1.0 سم. بهذا يمكن تقدير تركيز معظم البروتينات بقياس مقدار الامتصاصية Absorbance عند 280 nm. إن هذه الطريقة سريعة وبالامكان استرجاع عينة البروتين بعد التقدير. وتستخدم هذه الطريقة غالباً لمتابعة مراحل تنقية البروتين. غير ان هناك مركبات اخرى موجودة في المواد الطبيعية تظهر امتصاصية عند 280 nm ايضاً ، وبالاخص الاحماض النووية. حيث تظهر الاحماض النووية قمة امتصاص عند 260 nm ، وهي بهذا تظهر بعض الامتصاصية عند 280 nm. لذا فإن مقدار الامتصاصية (A) لعينة بروتين ما ، تحدد عند 280 nm وكذلك عند 260 nm ، ثم تحسب النسبة بينهما (A260 / A280). واعتماداً على مقدار هذه النسبة يستخرج عامل التصحيح correction factor مرجعياً. ثم يحسب تركيز البروتين كما يأتي :

$$\text{تركيز البروتين (ملغم / مل)} = \text{عامل التصحيح} \times A280$$

3- طريقة بايوريت Biuret method

تتضمن هذه الطريقة اتحاد البروتين (او المركبات الحاوية على اثنين او اكثر من الاواصر البيبتيدية) مع محلول كبريتات النحاس بوجود قاعدة قوية ، فينتج محلول بنفسجي يمتص [illegible] الاشعة [illegible] قدره [illegible] nm كما في التفاعل (شكل 5 – 24).



شكل (5 – 24) تفاعل بايوريت

إن هذه الطريقة ليست حساسة جداً حيث يمكن قياس عينة بروتين لحد 0.25 ملغم فقط ، كما ان وجود المحلول المنظم تريز tris في العينة ، يتداخل مع هذه الطريقة .

4- طريقة فولن– سيوكالتو (لوري) Folin – Ciocalteu (Lowry)

وهي طريقة لونية لتقدير كمية البروتين ، ينتج عنها لون ازرق يمتص طيف الاشعة عند طول موجي قدره 750 nm. إن اللون المتكون ناتج عن كل من تفاعل بايوريت واختزال محلول فوسفوليبديك– فوسفوتنكستيك من قبل وحدات التايروسين والتريبتوفان الموجودة في البروتين. وتعتبر هذه الطريقة حساسة حيث يمكن قياس عينة بروتين لحد 0.5 مايكروغرام (كحد ادنى) . ويتداخل وجود المحلول المنظم تريز والمركبات المختزلة مع هذه الطريقة .

تصنيف البروتينات Classification of Proteins

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

Simple Proteins ‏I البروتينات البسيطة (المتجانسة)

هي البروتينات التي بتحليلها لاتنتج الا الاحماض الأمينية او مشتقاتها وتختلف فيما بينها باختلاف خواصها الفيزياوية والكيمياوية وذلك تبعاً لنوع مكوناتها من الأحماض

Protamins ‏أ - البروتامينات

هي بروتينات ذات وزن جزيئي منخفض (حوالي 5000) وهي تحتوي بشكل رئيسي على الأحماض الأمينية القاعدية وخصوصا الارجنين ولا تحتوي على كل من التايروسين والتريبتوفان. وهذه البروتينات تذوب في الماء ولا تتخثر بوساطة الحرارة ولها نقطة تعادل كهربائي عند 12-10 pH ويمكن تحلل هذه البروتينات بوساطة التربسين trypsine في حين لا يمكن تحللها بوساطة الببسين pepsine. كما أنها تمتلك القدرة على تكوين مركبات غير ذائبة بالاتحاد مع الأنسولين. وتستخدم هذه الظاهرة من الناحية التطبيقية في صناعة الأدوية (تصنيع ال Insulin-retard). وهي تتحد بسهولة مع المجموعات السالبة للأحماض النووية مكونة النيوكليوبروتينات Nucleoproteins. ومن الأمثلة على هذا النوع من البروتينات، سالمين salmine في سمك السالمون وستورين sturine، في نوع من السمك الضخم يدعى ستورجون (sturgeon).

Histones ‏ب - الهستونات

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

Albumins ‏ج - الألبومينات

هذه البروتينات تذوب في الماء وفي المحاليل الملحية المخففة وكذلك في كبريتات الأمونيا المشبعة بدرجة 50% ولكنها تترسب في محاليل كبريتات الأمونيا المشبعة. كما تتغير طبيعتها بالتخثر تحت تأثير الحرارة (كالبيض المسلوق). وهي تحتوي على الأحماض الأمينية الشائعة وبنسبة قليلة على الكلايسين. وقد تكون الألبومينات مرتبطة مع السكريات

ولكن بكميات قليلة جداً. ومن الأمثلة على الألبومينات، ألبومين المصل serum albumin ، لاكتالبومين lactalbumin في الحليب ، والبومين البيض Ovalbumin .

د- ألكلوبيولينات Globulins

محاليل كبريتات الأمونيا نصف المشبعة

تتخثر بوساطة الحرارة ، بعضها لايذوب في الماء النقي. تحتوي كافة الاحماض الأمينية البروتينية ، وهي غنية خصوصاً بحامضي الكلوتاميك والأسبارتيك. وتنتشر الكلوبيولينات بشكل كبير في السوائل البايولوجية كالدم والمصل وسوائل الحويصلات المنوية وغيرها. ومن الأمثلة على الكلوبيولينات هي ألفا وبيتا وكاما كلوبيولين وكلوبيولين مصل الدم ومايوسين العضلات وكلوبيولين البيض ovoglobulin .

هـ - ألبرولامينات Prolamines

تتميز هذه البروتينات بخاصيتها على الذوبان في الكحول (ايثانول 70%) وهي تحتوي على نسب عالية من حامض الكلوتاميك ، البرولين ، الكلوتامين والاسبارجين ، كما تحتوي على قليل من اللايسين. ومثال على البرولامينات ، كليادين gliadin الموجود في الحنطة وزاين Zein الموجود في الذرة .

و- ألكلوتيلينات Glutelins

تتميز هذه البروتينات بخاصيتها على الذوبان في المحاليل الملحية الحامضية والقاعدية الخفيفة ولا تذوب في المحاليل الملحية ذات الـ pH المتعادلة. وهي غنية بأحماض الكلوتاميك والبرولين والأرجينين. وهي قريبة جداً من البرولامينات وتوجد بشكل خاص في بذور النباتات ، ومثال عليها كلوتينين الحنطة (glutenin) .

ز- السكليروبروتينات Scleroproteins

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

١ - ألكيراتين Keratin

عبارة عن بروتينات تكون النسيج الواقي بشكل رئيسي (كالشعر والأظافر) ومن بينها الكيراتين الحقيقي eukeratins الذي يقاوم بدرجة كبيرة فعل الأنزيمات ، ولا يذوب في

المذيبات الاعتيادية ، وهذه البروتينات غنية بالسايستين والأحماض ، الأمينية القاعدية . أما الكيراتين الكاذب Pseudokeratins فهو يختلف قليلاً حيث يكون أكثر ذوباناً واقل مقاومة للتحلل بوساطة الأنزيمات.

٢ – الكولاجين Collagen

وهو بروتين يتميز بمقاومة قوة الشد العالية ، وهو من المكونات الرئيسة للأنسجة الرابطة (الضامة) والغضاريف وغيرها ، ويشكل نسبة 30% من البروتين الكلي للحيوان .

تكون الكولاجينات ذائبة في درجات الحرارة الاعتيادية في وسط من حامض الخليك أو الستريك وفي pH مقاربة من 3 . وقد تذوب في الماء بازدياد درجة الحرارة لحد ما . وتتميز باحتوائها على كميات كبيرة من الكلايسين والألانين وبشكل خاص البرولين والهيدروكسي برولين. وهذا الحامض الأخير هو ما يميز الكولاجين حتى ان تقدير الكولاجين يعد عملياً تقديراً للهيدروكسي برولين.

٣ – الإلاستين Elastin

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

II البروتينات المقترنة (المرتبطة) Conjugated proteins

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

أ– الفوسفوبروتينات Phosphoproteins

وهي البروتينات التي تحتوي على حامض الاورثوفوسفوريك . وهذا يرتبط عموماً بوساطة آصرة استرية مع متخلف السيرين أو الثريونين لسلسلة متعدد الببتيد . وتكون الفوسفوبروتينات ذائبة في المحاليل الملحية . وهي ذات خاصية حامضية متميزة ، كما انها تتخثر بالحرارة (ولكنها تفقد الفوسفور) ويمكن تحليلها بوساطة الببسين والتربسين. ان

بعض الفوسفوبروتينات ذات خواص أنزيمية. ومن الأمثلة على الفوسفوبروتينات كاسئين الحليب (casein).

ب – الكلايكوبروتينات [illegible] (البروتينات السكرية)

وهي بروتينات غير متجانسة تتكون من اتحاد السكر مع الجزء البروتيني بوساطة آصرة تساهمية. وتعد الكلايكوبروتينات بشكل عام ثابتة بالنسبة للحرارة. وتذوب في الماء والمحاليل الملحية ذات الـ pH المتعادلة. ومحاليلها ذات لزوجة متميزة. وهي تترسب في وسط حامضي أو بوساطة الايثانول ولكنها تترسب بصعوبة بوساطة حامض الخليك ثلاثي الكلور trichloroacetic acid. ومن الأمثلة هذا النوع من البروتينات، الفا– كلايكو بروتين glycoprotein للبلازما. وللكلايكوبروتينات أهمية بايولوجية مختلفة وهي واسعة الانتشار.

جـ – البروتينات المعدنية Metalloproteins

تحتوي هذه البروتينات على أيونات معدنية مختلفة، مثل أنزيم كحول ديهايدروجينيس alcohol dehydrogenase الحاوي على أيون الخارصين.

د – الكروموبروتينات Chromoproteins

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

١– الصبغات المختصة بالتنفس، مثل الهيموكلوبين hemoglobin والهيموسيانين hemocyanin ومايوكلوبين myoglobin العضلات.

٢– مكونات السلاسل الناقلة للالكترونات في الميتوكوندريا مثل السايتوكرومات cytochromes والفلافوبروتينات flavoproteins.

٣– الصبغات البصرية، مثل الرودوبسين rhodopsin والايودوبسين Iodopsin.

ان الكثير من الكروموبروتينات تحتوي على المعادن كالحديد والنحاس. وتتميز في أكثر الأحوال بقدرتها على التبادل الأيوني. كما تعتبر الكروموبروتينات عموماً ذائبة في الماء والمحاليل الملحية المخففة ولكنها غير ذائبة في المحاليل الملحية المركزة ولها طيف امتصاص متميز.

هـ – الليبوبروتينات (البروتينات الدهنية) Lipoproteins

وهي بروتينات غير متجانسة تتحد فيها الليبيدات مع الجزء البروتيني. وتوجد في الأغشية الخلوية وفي بعض الفيروسات viruses (رواشح) الحيوانية. كما توجد بشكل خاص في [illegible] الليبيدات [illegible] الليبوبروتينات في كلوريد الصوديوم بتركيز 10% وترسب في تركيز ملحي اقل من هذا التركيز. وفي مصل الدم فإن الجزء البروتيني لليبوبروتينات عبارة عن الكلوبيولين. ومن الممكن فصل الجزء الليبيدي بوساطة الميثانول بتركيز 10-20%

و– البروتينات النووية Nucleoproteins

تنتج البروتينات النووية من اتحاد الأحماض النووية مع البروتامينات والهيستونات وأحياناً مع البروتينات غير القاعدية. وتوجد في الخلايا حقيقية النواة Eukaryotic (في النواة والسايتوبلازم) وكذلك توجد في الخلايا بدائية النواة Prokaryotic وفي الرواشح او الفيروسات.

وتقسم البروتينات الى صنفين رئيسيين، إعتماداً على صفاتها الفيزياوية، وهما البروتينات الليفية Fibrous والكروية Globular.

1– البروتينات الليفية Fibrous Proteins

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

2– البروتينات الكروية Globular Proteins

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

بروتينات البلازما Plasma Proteins

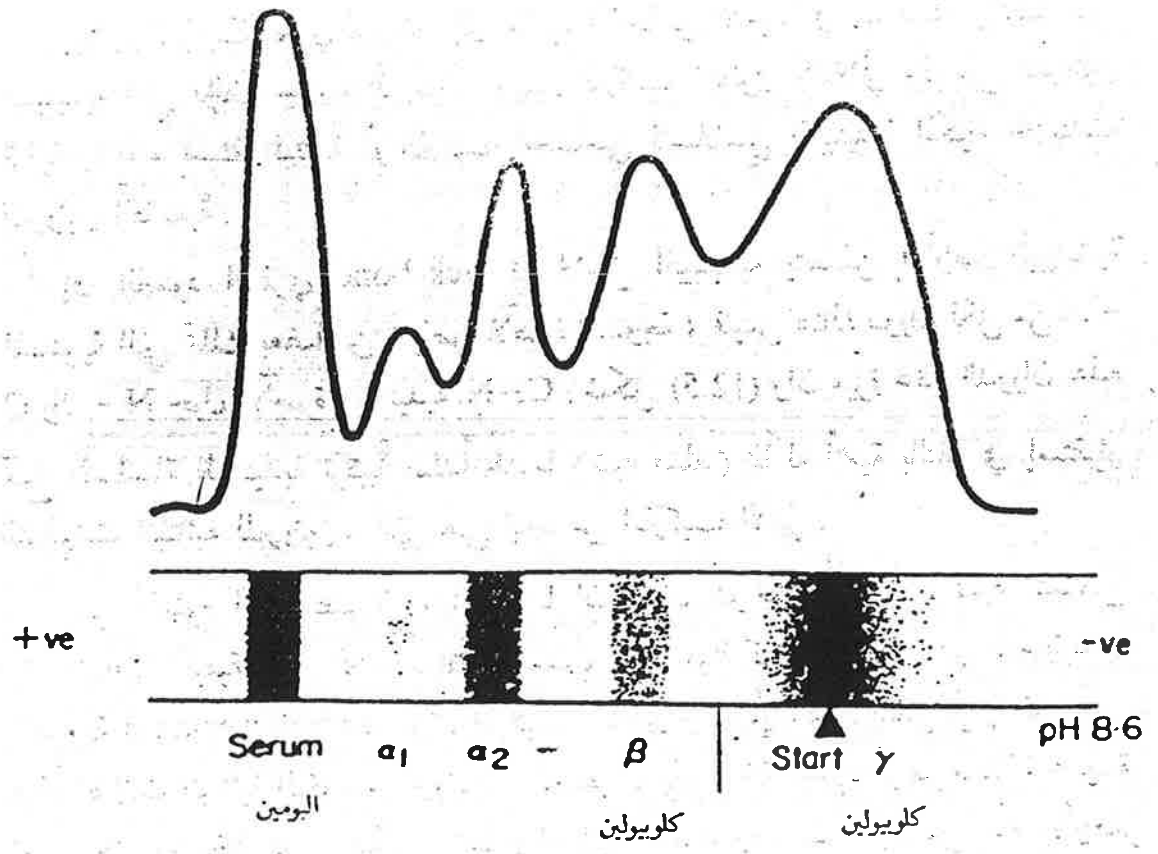
تتراوح نسبة بروتينات البلازما من 6-8 غرامات لكل 100 سم^{3} من الدم. ويحتوي بلازما دم الانسان السليم على ستة اجزاء من البروتينات، امكن فصلها بوساطة الهجرة

الكهربائية Electrophoresis كما هي موضحة في الشكل (5-25) وفيما يلي وصفاً موجزاً لهذه الأجزاء :

على الضغط الازموزي للدم وعلى استقراريته Stability . كما يقوم بنقل بعض الحوامض الدهنية الحرة والبليروبين والكالسيوم وبعض الهورمونات كالالدوستيرون ، وعليه فهو يلعب دوراً كبيراً في أيض هذه المركبات .

2 – الفا – 1 – كلوبيولين $\alpha 1$ – Globulin : يقوم بنقل الستيرويدات والدهون والدهون الفوسفورية . ويشمل اللايبوبروتين lipoprotein والترانسكورتين transcortin .

3 – الفا – 2 – كلوبيولين $\alpha 2$ – Globulin : يقوم بنقل الدهون والهيموكلوبين المتكسر من كريات الدم الحمراء ، كما يقوم بنقل النحاس والمشاركة في تكوين الخثرة الدموية . ويشمل اللايبوبروتين lipoprotein والسيروبلازمين والبروثرومبين .



شكل (25.5) بروتينات بلازما الدم

4- بيتا- كلوبيولين β -Globulin : يشمل بيتا- لايبوبروتين وترانسفرين trans-ferrin . يقوم الترانسفرين بنقل الحديد.

5- كاما- كلوبيولين γ- Globulin : ويدعى بالاجسام المضادة (المستضدات antibodies) يقوم بوظائف دفاعية حيث يتحد مع البكتريا معادلاً بذلك سموم البكتريا التي تعمل في هذه الحالة مكونة الضد antigens .

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

التنظيمات البنائية (التركيبية) للبروتين Orders of protein structure

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

ويشير التركيب الأولي للبروتين إلى تعاقب الأحماض الأمينية في السلسلة أو السلاسل الببتيدية التي تؤلف جزيء البروتين. ويبين التركيب الثانوي والثلاثي والرابعي للبروتين كيفية إنتظام الهيئة البنائية أو التركيب المجسامي للسلاسل الببتيدية المكونة لجزيئات البروتين الطبيعية.

إن العمود الفقري back bone للسلاسل الببتيدية يتضمن الأواصر الببتيدية المستوية التي تملك بعضاً من خواص الآصرة المزدوجة ، فليس هناك دوران لكل من الـ C والـ N حول الآصرة الببتيدية C–N (شكل (12.5) وإن ميزة عدم الدوران هذه تمنح السلسلة الببتيدية تركيباً صلداً لحدما (شبه صلد) مما له أهمية بالتالي في إستقرار التنظيمات البنائية للبروتين، التي هي أبعد من التركيب الأولي.

ومن المعلوم ان معظم البروتينات إما أن تكون ذو طبيعة (هيئة) ليفية فتسمى بالبروتينات الليفية fibrous protein او تكون ذات هيئة كروية فيطلق عليها بالبروتينات الكروية globular pratein . وإن التركيب الثانوي والثلاثي الذي يتمثل في إنتظام مثل هذه الهيئات البنائية الخاصة للبروتينات الطبيعية ، يعود ثباته لوجود أواصر مختلفة عديدة تعمل على المحافظة على الشكل (البناء) الكلي المعقد للبروتينات ، وتشمل هذه الأواصر الأنواع الآتية ، انظر شكل (5-26) :

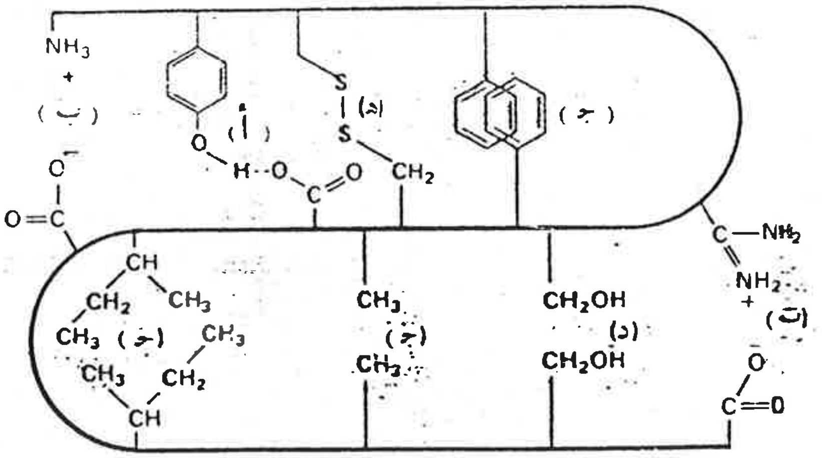
أ- الأواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين مجموعات- CO ومجموعات NH- للمتخلفات المكونة للعمود الفقري للسلسلة الببتيدية ، وكذلك الأواصر الهيدروجينية الموجودة بين الـ HO لمتخلفات التايروسين والـ COO^- لمتخلفات الأسبارتيك والكلوتاميك.

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

جـ- التداخل interaction بين المجموعات الكارهة للماء hydrophobic groups وهذا ينتج عن تجاذب المجموعات R الأليفاتية أو الأروماتية لمتخلفات الأحماض الأمينية مع بعض.

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

هـ- الأواصر ثنائية الكبريت المتكونة كما هو معروف سابقاً : بين كل وحدتين من متخلفات السايستيين للسلسلة الببتيدية.



شكل (26-5) بعض أنواع الأواصر التي تساعد في ثبات التركيب البنائي للبروتين

التركيب الأولي للبروتين Primary structure of protein

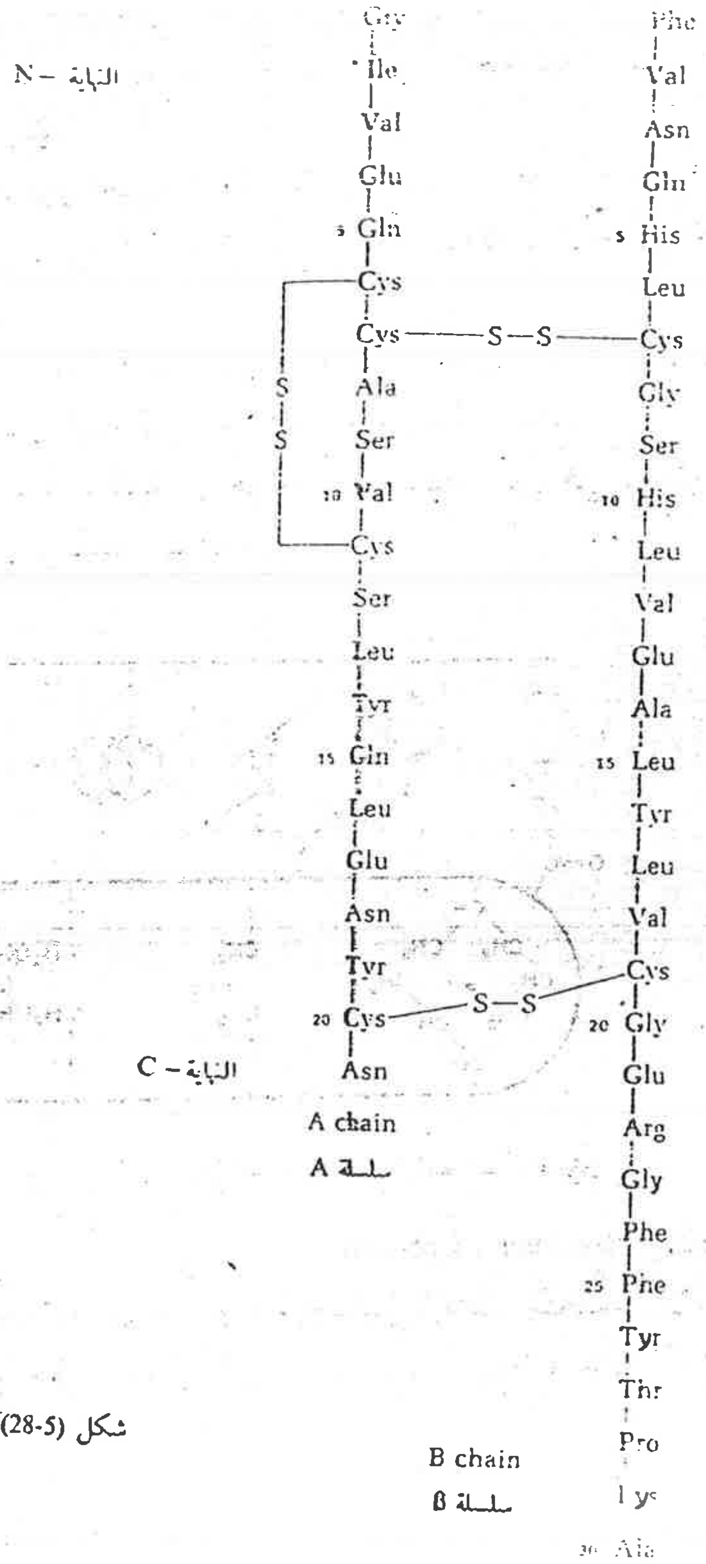
يشير التركيب الاولي للبروتين الى عدد ونوعية وتسلسل (إنتظام) متخلفات الاحماض الامينية في السلسلة أو السلاسل الببتيدية التي تؤلف ذلك البروتين ، مثال ، (شكل 27-5).

-Ala- Gly- Gly- His- Leu-

- Ala- Gly- His- Gly- Leu-

شكل (5-27) قسمان لسلسلتين بروتينين ذواتى تركيب أولي مختلف

ان الأنسولين (فصل 15) أول بروتين تم ايجاد تركيبه الأولي وذلك عام 1950 بوساطة العالم



شكل (5-28) التركيب الاولي لانسولين الماشية

يتطابق تسلسل متخلفات الاحماض الامينية (التركيب الاولي) لجزيئات اي بروتين معين في النوع الواحد من الكائنات الحية. وقد تحدث احياناً طفرات جينية وراثية في الجين المعين لذلك البروتين. مما يؤدي الى احلال وحدات حامض اميني او عدة احماض

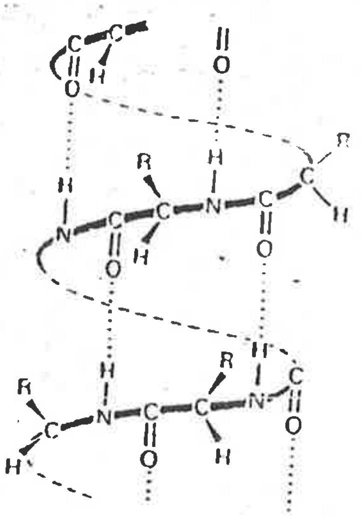
(الهلالي) Sickle cell anemia. حيث يختلف هيموكلوبين فقر الدم المنجلي عن الهيموكلوبين الطبيعي بوحدة حامض اميني واحد فقط. فمتخلف حامض الكلوتاميك في الموقع 6 من سلسلة ß- للهيموكلوبين الطبيعي حل محله وحدة الفالين في هيموكلوبين فقر الدم المنجلي شكل (5-33). ان احلال الحامض الاميني يكون نتيجة طفرة في جزيئة الحامض النووي DNA التي تشفر سلسلة ß- للهيموكلوبين (الفصل 14).

التركيب الثانوي للبروتين Secondary structure of protein

يشير التركيب الثانوي للبروتين الى كيفية التواء او انطواء سلسلة او سلاسل ببتيدية للبروتينات في الحالة الطبيعية. على امتداد محور واحد. ان هذا الالتواء بالشكل المحدد تقوم على تثبيته الأواصر الهيدروجينية والأواصر ثنائية الكبريت (انظر شكل 5-26، 5-29، 5-30). ولقد تم الحصول على معلومات دقيقة بهذا الصدد بوساطة تحليل حيود الاشعة السينية لعدد من البروتينات التي اجريت في البداية من قبل العالمين بولينك Pauling وكوري Corey. وتبين ان التركيب الثانوي للبروتين يتمثل بالانواع المختلفة الآتية:

1- المنحني الحلزوني- ألفا α- Helix

يتمثل هذا التركيب الثانوي في بناء البروتين الليفي المسمى الفا- كيراتين α- keratin حيث تكون السلاسل الببتيدية ملتوية بانتظام لتشكل تركيباً يسمى بالمنحني الحلزوني الفا (شكل 5-29). ويوجد حوالي 3.6 وحدة حامض اميني لكل دورة من المنحني الحلزوني. وتمتد مجموعات R الى الخارج من العمود الفقري لسلسلة متعدد الببتيد الملتوية مما يجنب التراحم الكتلي فيما بينها ويجعل شكل المنحني ثابتاً. ويكون المنحني الحلزوني الفا ثابت الشكل ايضاً وذلك لأن الحلقات المتعاقبة ترتبط مع بعضها بوساطة اواصر هيدروجينية وتمنح تداخلات ڤاندر ڤالس ثباتية إضافية لهذا البناء، وكذلك فإن هذا التركيب يسمح لحصول زوايا الأواصر على قيمها الطبيعية. ويتكون الكيراتين- ألفا- الموجود في الشعر والصوف من حبال تتألف كل واحدة منها من 3-7 منحنيات كل منها بشكل المنحني الحلزوني، وملتوية حول بعضها. وسلاسل الببتيد المتجاورة هذه ترتبط مع بعض بوساطة عدة اواصر S-S مستعرضة.



(أ) حلزون α

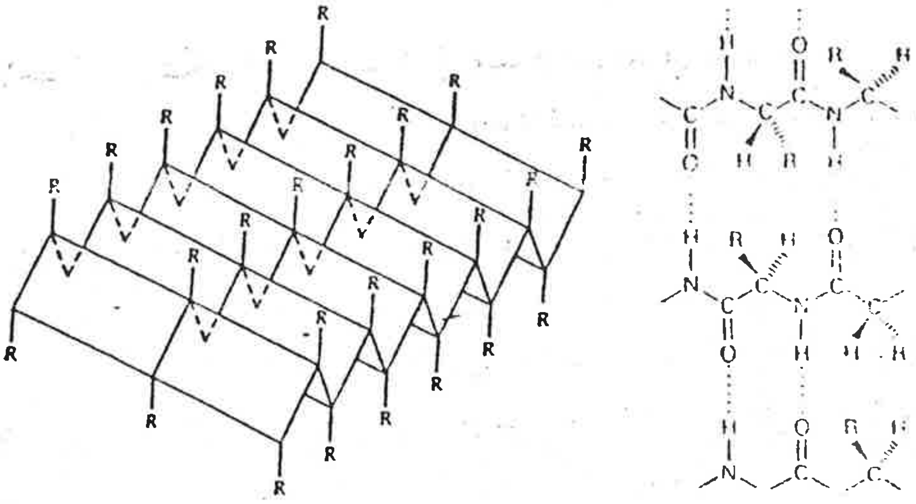
شكل (5-29) التركيب الثانوي للبروتين بشكل المنحني الحلزوني– الفا

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

Pleated sheet

2– الصفائح المسطحة بيتا (السطح المطوى)

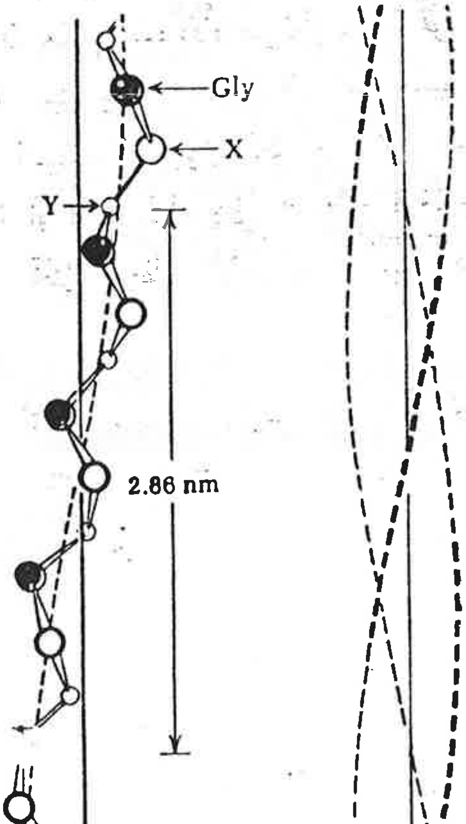
يتمثل هذا التركيب الثانوي في بناء البروتين الليفي المسمى فيبروين fibroin (البروتين الليفي للحرير). حيث تمتد سلاسل متعدد الببتيد بأبعاد متعرجة تشبه الزكزاك zig-zag يعبر عنها بأشكال– بيتا ß- confignration. وتترتب مثل هذه السلاسل موازية بعضها البعض ولكن باتجاهات متعاكسة. وترتبط السلاسل المتجاورة بوساطة الأواصر الهيدروجينية. وفي هذا النوع من البناء (التركيب). يمكن الوصول الى أعلى درجة من التآصر الهيدروجيني، بدون حصول زيادة في التراحم الكتلي للمجموعات R لمتخلفات الأحماض الأمينية المكونة للسلاسل. (شكل 5-30).



شكل (30-5) التركيب الثانوي للبروتين بشكل الصفائح المسطحة

3- منحني حلزوني ثلاثي Triple helix

ويتمثل هذا التركيب الثانوي في بناء البروتين الليفي كولاجين collagen (مولد الغراء). حيث تلتوي ثلاث سلاسل من متعدد الببتيد حول بعضها لتكون منحنياً حلزونياً ثلاثياً (شكل 5-31). ويكون هذا النوع غنياً بوحدات البرولين والكلايسين التي تقع في مناطق الانحناءات.



شكل (31-5) التركيب الثانوي للبروتين بشكل منحني حلزوني ثلاثي

ومن الملاحظ بأن الشكل الخاص لسلاسل متعدد الببتيد في هذه الانواع الثلاثة من البروتينات الليفية، يكون فقط ثابتاً وذلك لوجود تسلسل احماض أمينية خاصة. [illegible]

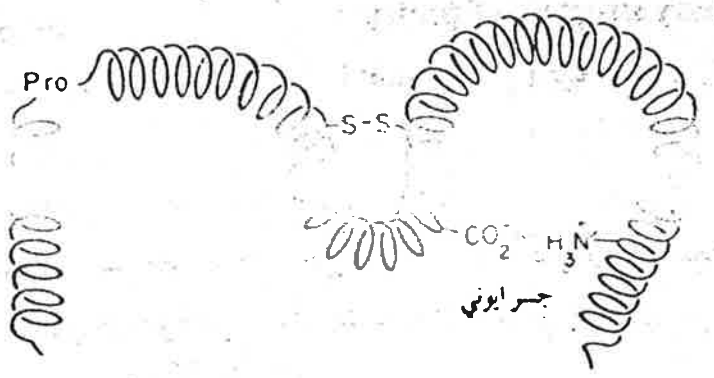
[illegible]

او عدة أحماض امينية تحتوي على مجموعات R مشحونة، فإن هذا المنحني الحلزوني يتوتر ويشذ عن الابعاد الموضحة في الشكل (5-29). ويتكون شكل الصفائح المسطحة بوجود سلاسل بيبتيدية تحتوي على عدد كبير من احماض أمينية صغيرة مثل الكلايسين والألانين. كما يتكون شكل المنحني الحلزوني الثلاثي للكولاجين بوجود سلاسل بيبتيدية تحتوي على وحدات برولين وكلايسين بفسح منتظمة.

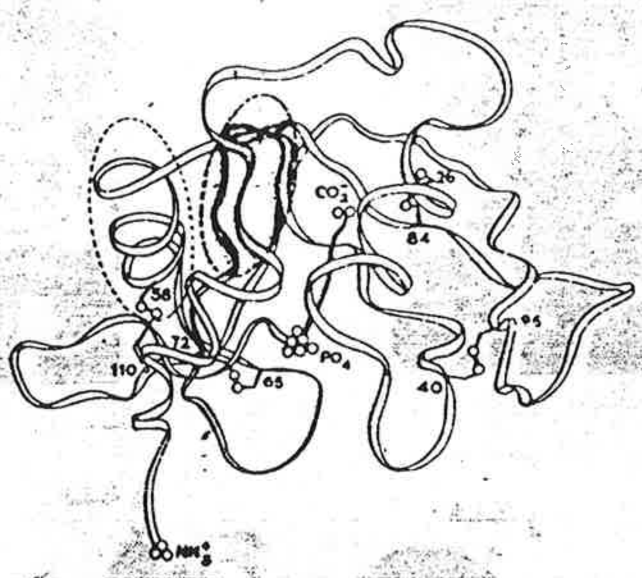
التركيب الثلاثي للبروتين Tertiary structure of protein

يحدد التركيب الثلاثي، الشكل الكلي لجزيء البروتين الكروي. أي أن هذا البناء يمثل الشكل الثلاثي الأبعاد للبروتين الكروي. ويتوضح فيه التفافات اخرى اضافة لالتفافات البناء الثانوي وعلى امتداد اكثر من محور واحد لسلسلة متعدد الببتيد المكونة لجزيء البروتين. وثبات هذا البناء يعود لوجود الأواصر المختلفة العديدة التي تعمل على المحافظة على هذا الشكل الكلي المعقد الثابت. ان بعض هذه الأواصر تكون اكثر قوة من الأواصر الهيدروجينية في تثبيت التواءات السلسلة البيبتيدية الواحدة أو السلاسل البيبتيدية معاً (انظر شكل 5-26). وفي سلسلة متعدد الببتيد للبروتين الكروي، تقع معظم الاحماض الأمينية ذات المجموعات R القطبية أو المحبة للماء على السطح الخارجي للبروتينات الكروية، وتكون معرضة للماء بينما تختفي معظم الأحماض الأمينية ذات المجموعات R غير القطبية عن التعرض للماء.

وقد بينت نتائج التحليلات بوساطة حيود الأشعة السينية التركيب الثلاثي لبروتينات كروية، مثل انزيم ريبونيوكليس في البنكرياس pancreatic ribonuclease شكل (5-32):



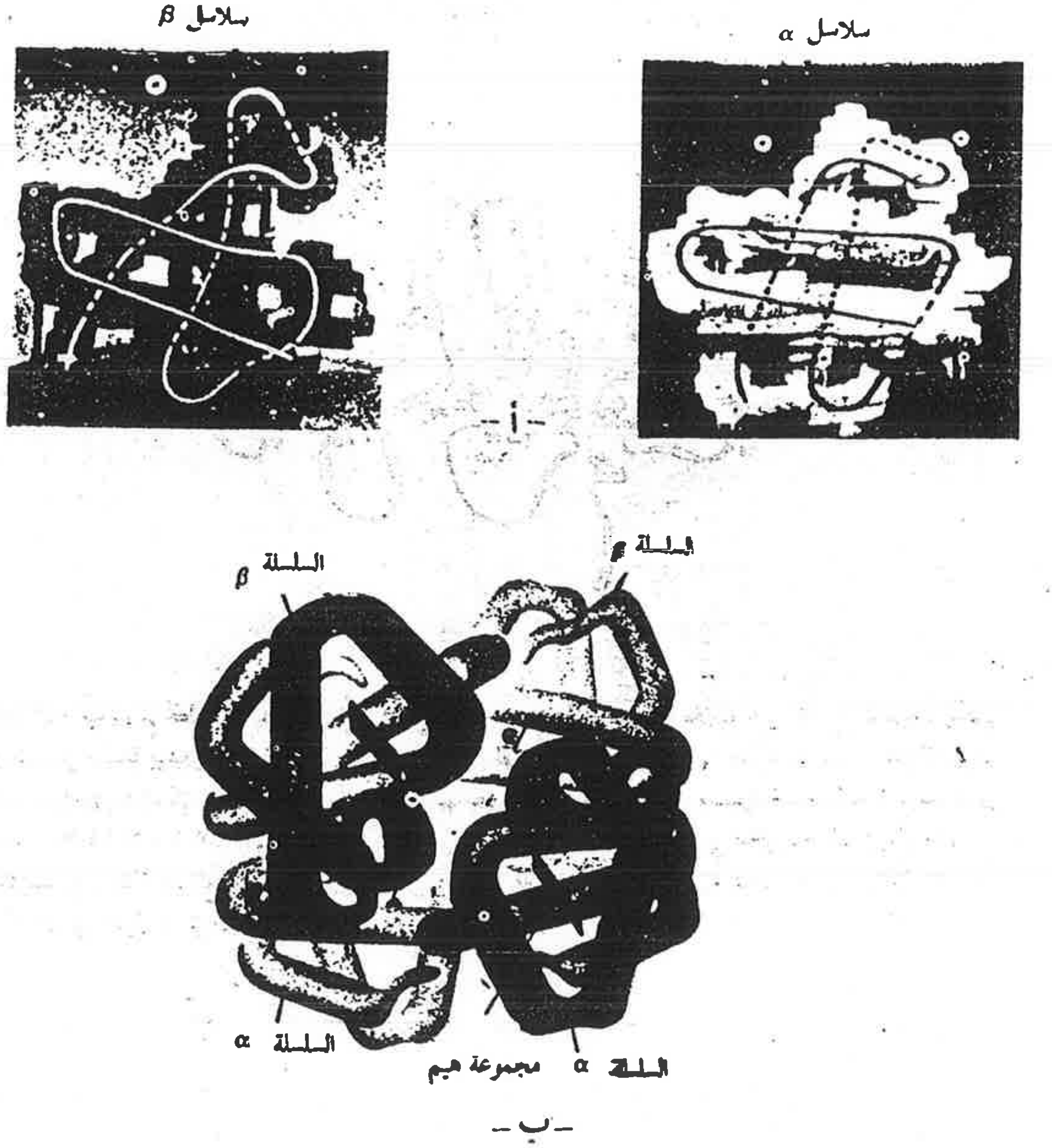
شكل (5-32 أ) شكل تخطيطي للبناء الثلاثي في بروتين ما



شكل (5-32 – ب) رسم تخطيطي لبناء أنزيم ريبونيوكليس في البنكرياس. استنتج من تحليلات حيود الأشعة السينية، يتكون هذا البروتين من سلسلة ببتيدية واحدة تتألف من 124 وحدة من الأحماض الأمينية، بدايتها بمجموعة الأمين (NH_3^+) ونهايتها بمجموعة الكربوكسيل ($CO\bar{O}$). هذه السلسلة ترتبط مع بعضها بأربع اواصر ثنائية الكبريت مستعرضة لمتخلفات السايستين في التعاقب بين 26-84, 40-95, 58-110 و 65-72. ويتوضح في بناء هذه السلسلة منطقة لمنحني الحلزون– ألفا (وهذه حصرت بدائرة للتوضيح) ومنطقة صفائح مسطحة (وهذه حصرت بدائرة غامقة). والمنطقة المرتبطة بمجموعة الـ PO_4^{-3} تشير الى الطرف الفعال في الجزيء (انظر الفصل 6 للأنزيمات).

Quaternary structure of protein التركيب الرباعي للبروتين

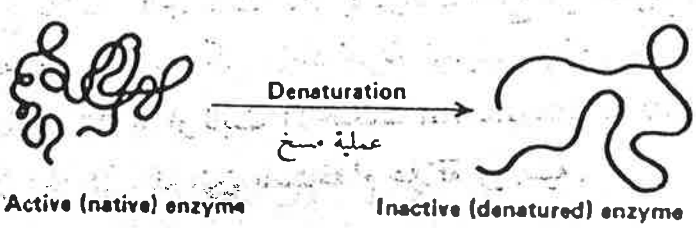
يشير هذا التركيب (البناء) الى الطريقة التي تنتظم (تتلاءم) فيها عدد من السلاسل الببتيدية مع بعض لتكوين وحدة كبيرة كجزيء بروتيني معين. فجزيئة الهيموكلوبين مثلاً تتألف من أربعة سلاسل ببتيدية، إثنان منها ألفا- واثنان منها بيتا- هذه السلاسل الأربعة تنتظم مع بعضها بطريقة معينة لتكون جزيئاً كاملاً للهيموكلوبين. وتتشابه سلاسل الفا- وبيتا في تركيبها الثلاثي ومتكونة من اطوال متشابهة من المنجني الحلزوني مع انحناءات بالدرجة نفسها والاتجاه نفسه (شكل 5-33).



شكل (5-33- أ) البناء الثاني والثلاثي لسلاسل ألفا وبيتا لجزيئة الهيموكلوبين (ب) البناء الرباعي لجزيئة الهيموكلوبين

فقدان الصفات الطبيعية (المسخ) للبروتين Denaturation of protein

تحدث ظاهرة فقدان البروتين لصفاته الطبيعية نتيجة تغير في التركيب (الهيئة البنائية) الذي يؤدي بالتالي الى تغير الصفات الفيزياوية لذلك البروتين. فمحاليل البروتين تفقد صفاتها الطبيعية عند بقائها في محيط حامضي أو قاعدي أو عند الرج، التحريك المستمر، التسخين أو وجود مواد مختزلة، منظفات، مذيبات عضوية او التعريض للاشعة السينية والضوء وللموجات فوق الصوتية. هذه المسببات تؤدي الى فقدان البروتين لوظيفته الحيوية، والتقليل من قابلية ذوبانه عند نقطة التعادل الكهربائي. وهذه المسببات تعمل على فصم الأواصر الهيدروجينية والعديد من أواصر الكبريت الثنائية مما تجعل ذلك البروتين يفقد بناءه الطبيعي وفعاليته الحيوية ويسهل ترسيبه (شكل 5-34). وقد تسترجع بعض البروتينات بناءها الطبيعي وبالتالي فعاليتها الحيوية بعد زوال المؤثر وتحت ظروف معينة كما هو الحال في الهيموكلوبين. إن عملية المسخ ليس لها تأثير على الأواصر الببتيدية للبروتين.



شكل (5-34) يمثل مسخ أنزيم فعال الى أنزيم غير فعال

الوزن الجزيئي للبروتينات Molecular Weight of Proteins

إن الأوزان الجزيئية للبروتينات، عموماً، تتراوح بين 5000-50000000 دالتون. ويمكن تعيين الأوزان الجزيئية للبروتينات بطرق فيزياوية أهمها:

الضغط التنافذي (ازموزي) والبعثرة الضوئية
Osmotic pressure and Light scattering

يمكن تعيين الوزن الجزيئي لبروتين ما بوساطة قياس الضغط التنافذي. فاذا كان هناك محلول بروتيني ومذيبه، يفصل بينهما غشاء بحيث يسمح هذا الغشاء بنفاذ جزيئات المذيب فقط، فانه سيكون هناك محصلة جذب لجزيئات المذيب نحو الجانب لمحلول

البروتين. وبهذا فأن الزيادة الحاصلة لضغط محلول البروتين يمكن قياسها بجهاز يستخدم لقياس الضغط التنافذي ويسمى ، اوزموميتر osmometer . ويتناسب الضغط التنافذي

اما طريقة البعثرة الضوئية المستخدمة في تقدير الوزن الجزيئي لبروتين ما فتعتمد على كون البروتينات في المحاليل تتصرف كدقائق عادية ، فهي تبعثر الضوء المار خلال المحاليل المذابة فيها. وان الدقائق الكبيرة تبعثر الضوء أكثر من الدقائق الصغيرة ، لذا يمكن حساب الوزن الجزيئي لبروتين ما بقياس النسبة المئوية للضوء المتبعثر عند زاوية محددة ، أثناء مروره خلال محلول البروتين.

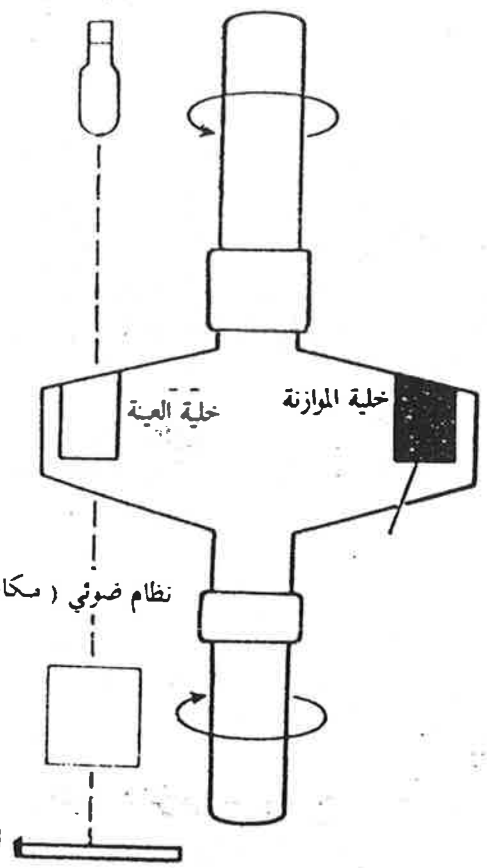
النبذ (الطرد المركزي) فائق السرعة Ultracentrifugation

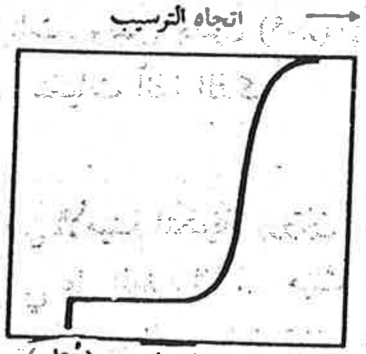
عند استخدام قوة نبذ عالية جداً (لحد 500,000 xg) ، يكون بالأمكان ترسيب جزيئات البروتين بسرع ملائمة. فالجزيئات الكبيرة تترسب اسرع من الجزيئات الصغيرة ، وباستعمال تقنية سرعة الترسيب ، يمكن ايجاد سرعة ترسيب بروتين ما. وبمعرفة ثابت الأنتشار diffusion coefficient أو ثابت الأحتكاك frictional coefficient إضافة ، يمكن احتساب الوزن الجزيئي للبروتين باستخدام علاقة رياضية.

وتستعمل سرعة الترسيب أيضاً لتقدير نقاوة البروتين. حيث ان البروتينات ذات الأوزان الجزيئية المختلفة تترسب بسرع مختلفة ، وان وجود أثنين من المكونات في المحلول يمكن تمييزها بوساطة المعدات البصرية optical systems الموجودة في جهاز الطرد المركزي (النابذ) الفائق السرعة ، حيث تتابع حركة البروتينات (شكل 5-35) وتسجلها بشكل صور فوتوغرافية أثناء العملية.

نبذ التسلل الكثافي (الموقعي) Density gradient (Zonal) centrifugation

تعتمد هذه الطريقة على سرعة الترسيب خلال مدرج (تسلسل) كثافي من محلول السكروز غالباً. حيث يخلط محلول السكروز المركز مع الماء في انبوبة النابذ ، بنسب تنازلية من قعر الأنبوبة حتى الأعلى ، بعد ذلك يضاف الخليط البروتيني بطبقات الى قمة المحلول المدرج. ثم يشغل النابذ لعدة ساعات وبسرعة عالية 10^5 g . ويمكن بذلك تحديد مواقع الحزم البروتينية بصورة بصرية أو ازالة محتويات الأنبوبة بصورة دقيقة من ثقب في قعر الأنبوبة. ويستخدم على سبيل المثال مدرج مستقيم من السكروز مابين 20-60% . ومدرج

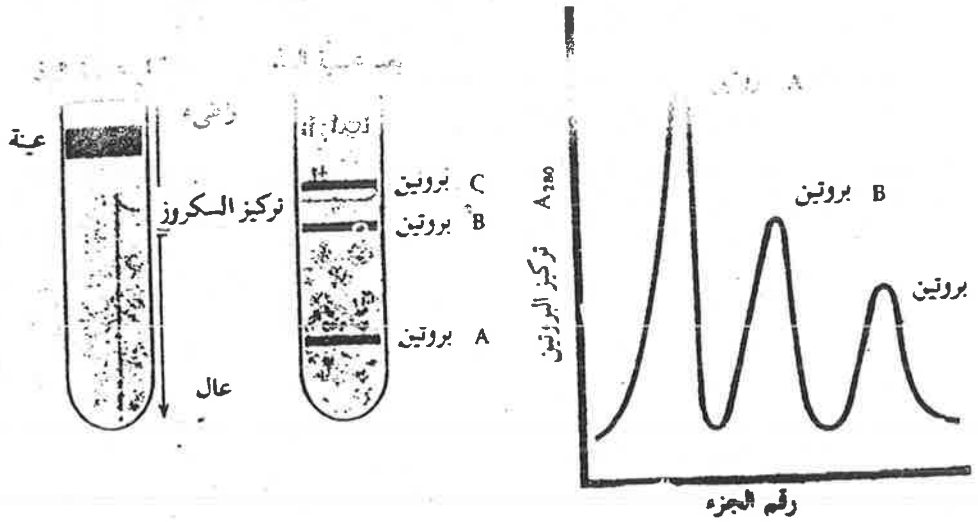




رسم يبين تركيز المذاب مقابل موقعه في خلية التحليل

شكل (5-35) جهاز النبذ (الطرد) المركزي التحليلي فائق السرعة.

الكثافة هذا ، يعتبر عنصراً مساعداً لغرض تجنب تيارات الهواء التي تسبب تحطيم جبهة الترسيب للحزم . (شكل 5-36) .



شكل 5-36) نبذ التسلسل الكثافي

وعند استعمال مواد ذات اوزان جزيئية معلومة كمؤشرات يضبح بالأمكان حساب الوزن الجزيئي التقريبي لبروتين ما باستخدام هذه التقنية .

كما تستخدم أيضاً كلاً من تقنية الترشيح الهلامي والهجرة الكهربائية (التي تم توضيحها في هذا الفصل) في تقدير الوزن الجزيئي للبروتينات . ويبين جدول (5-2) الأوزان الجزيئية لعدد من البروتينات التي تمّ تحديدها بإستعمال التقنيات أنفة الذكر.

وبالامكان حساب العدد التقريبي للأحماض الأمينية المكونة لبروتين بسيط بعد إيجاد وزنه الجزيئي وذلك بقسمة مقدار الوزن الجزيئي على العدد 120 . حيث ان معدل الوزن الجزيئي للأحماض الأمينية العشرين الداخلة في تركيب البروتينات تبلغ 138 ، وقد طرح منها العدد 18 الذي هو وزن جزيئة الماء ، المفقودة عند تكوين الآصرة الببتيدية .

جدول (2-5) الأوزان الجزيئية لعدد من البروتينات ، التي تم تقديرها بطرق مختلفة .

	طرق تحديد الأوزان الجزيئية		
البروتين	الضغط التنافذي	بعثرة الضوء	سرعة الترسيب
ألبومين البيض (Egg albumin)	44,000	45,700	44,000
ألبومين المصل (Serum albumin)	73,000	76,600	70,000
β– لاكتوكلوبيولين (β -- Lactoglobulin)	38,000	35,700	41,500
بيبسين (Pepsin)		37,000	36,000
فيبرينوجين (Fibrinogen)		340,000	330,000
لايسوزايم (Lysozyme)	17,500	14,800	16,000

استخلاص (عزل) وتنقية البروتينات Isolation and purification of proteins

ان تعدد البروتينات ونشاطاتها الحياتية في الخلية الحية وكذلك الاختلافات الكيميائية بينها ، يجعل عملية الاستخلاص والتنقية وتحديد الصفات البروتينية من اساسيات الكيمياء الحياتية . وقد تم تنقية عدد كبير من البروتينات بهيئة بلورات . ومن المتطلبات الرئيسية في عمليات التنقية ، تحرير البروتينات من الخلية بدون تلف نشاطها بطرق المزج (السحق) الميكانيكي والتجانس homogenization للأنسجة الحية في محلول منظم . حيث يعمل هذا على تكسير جدران الخلايا وتحرير مكوناتها .

وقد تستعمل تقنية الموجات الفوسمعية ultrasonic لهذا الغرض ايضاً. وقد يكون البروتين المراد فصله وتنقيته، مرتبطاً بجزء خلوي معين لذا ينبغي عزل الجزء الخلوي باستعمال تقنية النبذ المركزي. ان الجدول (5 – 3) يعطي مثالاً على التجزئة الخلوية (انظر اجزاء الخلية في الفصل الأول). وبعد الحصول على البروتين بشكل ذائب يمكن حينئذ عزله عن البروتينات الاخرى بطرق كروماتوكرافيا الترشيح الهلامي، الهجرة الكهربائية او النبذ التسلسل الكثافي الموقعي وغيرها.

وتقاس درجة النقاوة لكل مرحلة من مراحل التنقية لبروتين ما، بمقارنة تركيز البروتين الذي تمت تنقيته مع تركيز البروتين الكلي (الأصلي) وفي الوقت نفسه مقارنة الفعالية البايولوجية للبروتين الذي تمت تنقيته مع تلك للبروتين الكلي (الأصلي).

جدول (5 – 3) التجزئة الخلوية بوساطة النبذ المركزي

سرعة وزمن النبذ	الجزء الخلوي المترسب
1000 g، 5 دقيقة	خلايا حقيقية النواة غير مطحونة
4000 g، 10 دقيقة	البلاستيدات الخضراء ونوايا معظم الخلايا اضافة الى حطام خلايا حقيقية النواة.
15000 g، 20 دقيقة	الميتوكوندريا، البكتريا
30,000 g، 30 دقيقة	الجسيمات الحالة واللايسوسومات
100,000 g، 3 ساعة	الريبوسومات والبوليسومات (متعدد الجسيمات) (Polysomes)

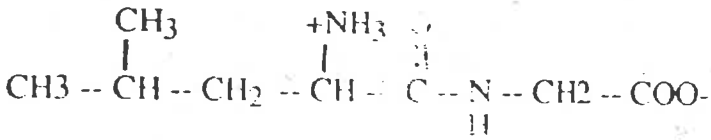
g التعجيل في قعر الأنابيب.

تمرينات الفصل الخامس

1 شخص المركبات الآتية وحدد تلك التي تحتوي على أواصر ببتيدية منها .

أ —

ب —



2 يؤلف الثريونين 2 %(وزناً) من محتويات الأحماض الأمينية للانسولين البقري. احسب الوزن الجزيئي (MW) للانسولين البقري. علماً بأن الوزن الجزيئي للثريونين هو 119 غم مول.

3 بين كيف أن التعويض بالأحماض الأمينية، تعمل على تغيير الشحنة الكلية في جزيء الهيموكلوبين عند pH7.0.

أ — Hbs (هيموكلوبين منجلي) فيه فالين عوضاً عن الكلوتامات عند الموقع، رقم 6 للسلسلة β.

ب — HI (هيموكلوبين المناعة) فيه كلوتامات عوضاً عن لايسين عند الموقع 16 للسلسلة α.

4 اي من المتخلفات الآتية يكون احتمال وجودها نحو الخارج في بروتين كروي. عند الـ pH الفيزيولوجية.

Ala. Phe. Arg. Ile. Asn. Met. Thr. Glu. Val. Leu

5. ببتيد خماسي حصل عليه من معاملة البروتين مع التريبسين. ووجد أنه يحوي. الأرجينين. حامض أسبارتيك ، ليوسين. سيرين وتايروسين ولغرض تحديد تعاقب الأحماض الامينية في هذا الببتيد. فقد. دور هذا الببتيد ثلاث مرات عبر عملية ادمان. وكانت محتويات الببتيد الباقية بعد كل دورة كالآتي :—

بعد الدورة الأولى : ارجينين ، حامض اسبارتيك. ليوسين. سيرين

بعد الدورة الثانية : ارجينين. حامض اسبارتيك. سيرين.

بعد الدورة الثالثة : ارجينين. سيرين.

ماهو تعاقب هذا الببتيد؟.

الفصل السادس

الانزيمات

Enzymes

الأنزيمات محفزات بروتينية للتفاعلات الحياتية. تعمل بتخصص عال على جزئ (مادة أساس Substrate) معين أو على صنف من الجزيئات المعينة وتحوي الخلية الحية الواحدة مايقارب 1000 من الأنزيمات المختلفة. وهذا ما يجعلها تعمل بكفاءة كآلة كيمياوية معقدة. والأنزيمات تشبه المحفزات الغير عضوية في كونها لاتستنفذ ولا تتغير بعد تحفيزها للتفاعل المعين. وهي تخفض طاقة التنشيط اللازمة لذلك التفاعل.

غير أنها تختلف عن المحفزات غير العضوية في كونها، تعمل بدرجة عالية من التخصص على جزئ معين أو على مجموعة جزيئات معينة تنتمي لعائلة واحدة. وتمتلك القابلية على انجاز التفاعل بنسبة 100% اي من دون نواتج غير ضرورية (جانبية). كما تمتلك الانزيمات خواص حركية مميزة كذلك فهي تمتاز بقدرتها على التحفيز تحت ظروف معتدلة من حيث درجة الحرارة وتركيز أيون الهيدروجين، الموجودة في الخلية الحية. ويمكن توضيح خصائص العمل التحفيزي للانزيم بالمثال، انزيم كاتاليس Catalase الذي يحفز التفاعل التالي:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{كاتاليس}} 2H_2O + O_2$$

إن التفاعل اعلاه يتم ببطئٔ شديد بغياب الانزيم، ولكن تصبح سرعة التفاعل أعلاه بوجود انزيم الكاتاليس 10^6 تحت الظروف المعتدلة. وإن جزيئة واحدة لأنزيم الكاتاليس والتي تحتوي اربعة مواقع فعالة، تحفز هدم حوالي 90000 جزيئة H_2O_2 في كل ثانية، وبنفس الوقت الكاتاليس متخصص جداً في عمله، فهو لايعمل على جزيئات اخرى غير الـ H_2O_2.

الطبيعة الكيمياوية للأنزيمات

الأنزيمات هي بروتينات تتألف من الأحماض الأمينية نفسها الموجودة في البروتين (جدول 5-1 الفصل 5). وتتكون بوساطة الخلايا الحية وتستطيع أن تعمل بصورة مستقلة [illegible]

([illegible]) [illegible] الأحماض الأمينية التي تؤلف ذلك الأنزيم. وبسبب كون الأنزيم مادة بروتينية ، لذا فان المواقع الفعالة فيه توجد على سطح الجزيء في منطقة ذات شكل هندسي محدد ثابت ، مما يجعل الأنزيم وبضمنه الموقع الفعال يمتلك التخصص والسيطرة لعملية التحفيز (انظر شكل 5 – 32 – ب). وتتكون الأنزيمات من سلسلة واحدة او عدة سلاسل لمتعدد الببتيد. ولكن البعض منها يحتوي على مكونات اخرى ضرورية لفعالية الأنزيم وتسمى العوامل المرافقة (المساعدة) cofactor وتكون العوامل المساعدة بشكل معادن مثل المغنيسيوم Mg والحديد Fe وغيرها. او قد تكون بشكل جزيئات عضوية معقدة تسمى بمرافقات الأنزيم coenzyme (الفصل السابع). وتحتاج بعض الأنزيمات أحياناً في عملها الى وجود كلا من الأيونات المعدنية والجزيئات العضوية المعقدة. وعند ارتباط العوامل المرافقة بقوة مع الأنزيم فانه يطلق عليها اسم المجموعة المترابطة Prosthetic group.

وهناك ثلاثة أنواع من مجاميع الأنزيمات ، إعتماد على تركيبها الجزيئي :

أ – الأنزيمات المونوميرية monomeric ، وهي التي تتألف كل من جزيئاتها ، من سلسلة ببتيدية واحدة ، وهذه النوع من الأنزيمات يساعد في تفاعلات التحلل المائي hydrolytic. مثال التريبسين Trypsin وريبونيوكلييس ribonuclease.

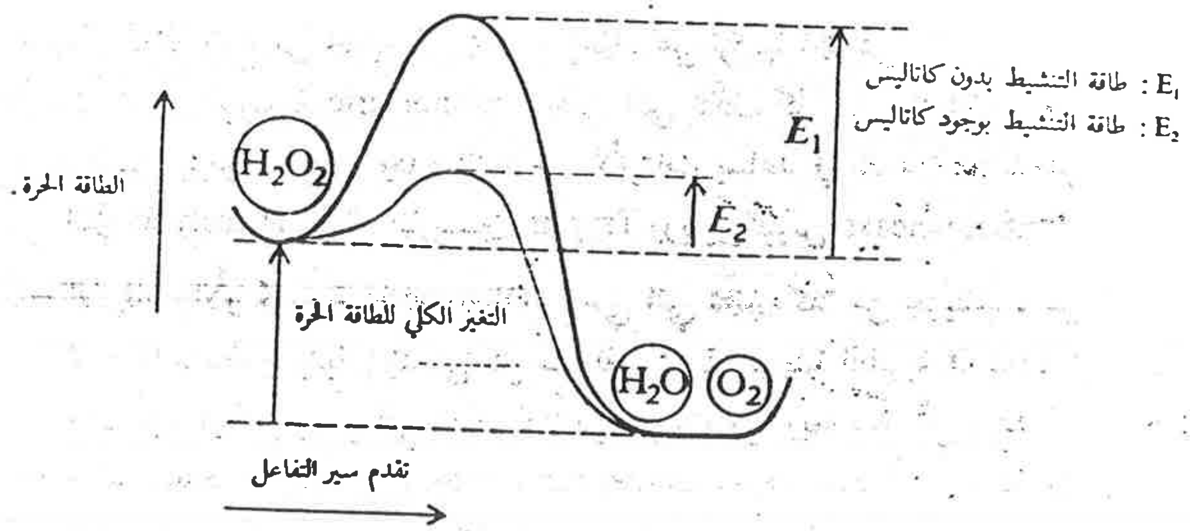
ب – الأنزيمات الأوليكوميرية Oligomeric ، وهي التي تتألف كلاً من جزيئاتها ، من 2 – 60 سلسلة ببتيدية (وتدعى كل سلسلة ببتيدية بالوحدة الثانوية subunit). مثال أنزيم هيكسوكينيس التي تتألف كلاً من جزيئاته من أربعة سلاسل ببتيدية.

جـ – معقد متعدد الأنزيمات multienzyme complex ، وهو عدد أو مجموعة من الأنزيمات مرتبطة مع بعضها ، وتشترك جميعا في مسار ما لتحويل مادة أو مواد الأساس الى ناتج. مثال المعقد بايروفات ديهايدروجينيس Pyruvate dehydrogenase complex ، المكون من ثلاث أنزيمات تشترك في تحويل البايروفات الى استيايل كو أنزيم Acetyl Co A أنظر شكل (10-2).

أما طرق فصل وتنقية الأنزيمات فهي الطرق المستخدمة للبروتينات نفسها (الفصل 5).

طاقة التنشيط وتأثير المحفز (الانزيم) Activation energy and Effect of catalyst

إن سير تفاعل كيمياوي ، يمكن توضيحهُ بالشكل التالي (شكل 6 – 1) حيث توجد المادة المتفاعلة (الأساس) والنواتج ، على التوالي ، الى يسار ويمين الحاجز الشبيه بالتل (hill) . [illegible] أن النواتج تكون عند مستوى طاقة أوطأ من تلك للمواد المتفاعلة ، غير أن التفاعل لايسير تلقائياً بسبب وجود الحاجز barrier ، والذي يمثل طاقة التنشيط activation energy اللازمة للتفاعل . إن إحدى الطرق لدفع التفاعل هي زيادة طاقة جزيئات المادة المتفاعلة وذلك بإستخدام الحرارة ، وبهذا فإنها ستمتلك طاقة حركية قادرة للتغلب على حاجز الطاقة energy barrier . غير أنهُ لايمكن للكائنات الحية أن تستخدم الحرارة ، لأنها تعمل عند درجة حرارية واطئة نسبياً وثابتة بنفس الوقت (أي إن الكائنات الحية متساوية الحرارة isothemal ، وغير قادرة على رفع درجة حرارتها بمقدار ملموس) ، وبهذا فهي تستخدم الأنزيمات (المحفزات) لجعل التفاعل يسير بمسار مختلف ذو طاقة تنشيط أقل ، وحيث يسمح لجزيئات المادة المتفاعلة بإمتلاك طاقة حركية كافية لعبور حاجز الطاقة ، وعند الدرجة الحرارية الفسيولوجية . إن الانزيمات لاتغير من الطاقة الحرة (ΔG) أو ثابت التوازن ، للتفاعل ، ولكنها تغير من مقدار طاقة التنشيط .



شكل (6 – 1) رسم توضيحي للطاقة في عملية هدم الـ H_2O_2 في غياب ووجود أنزيم كاتاليس .

إن جزيئات المادة المتفاعلة عندما تمتلك طاقة كافية لعبور حاجز الطاقة ، تكون غير مستقرة وتكون في حالة يطلق عليها بالحالة الإنتقالية transition state . وبهذا فإن طاقة التنشيط هي الطاقة الحرة اللازمة لتحويل المواد المتفاعلة الى حالتها النشيطة (الإنتقالية) ، أي الطاقة اللازمة للمواد المتفاعلة للتغلب على حاجز الطاقة .

الموقع الفعال The active site وعملية الحفز الأنزيمي Enzymic catalysis

إن خفض حاجز الطاقة energy barrier (شكل 6-1) ينجم عن إمتلاك جزيء الانزيم شكلاً ثلاثي الأبعاد، خاصاً، وذو منطقة محددة تعرف بالموقع الفعال active site. هذه المنطقة أو الجزء من سطح الأنزيم (الموقع الفعال) يربط الجزيئات المتفاعلة، بحيث تكون هذه الجزيئات مثبتة بوضع فراغي صحيح، ملائماً تماماً للتفاعل. وإن متخلفات الأحماض الأمينية للموقع الفعّال تلعب أيضاً دوراً فعالاً، وذلك بمنحها أو سحبها إلكترونات من الجاميع الوظيفية للمادة الأساس (المادة المتفاعلة). إن القوى التي تربط المادة الأساس بالموقع الفعّال تكون ضعيفة نسبياً وبهذا يكون بالامكان تحرر النواتج من على سطح الانزيم بعد اكتمال التفاعل.

إن الجزيء البروتيني الكبير ذو البعد الثلاثي المعين للأنزيم، يخدم في تواجد متخلفات متباعدة عن بعض لأحماض أمينية معينة، بالتقارب والتجاور بشكل معين، لتؤلف الموقع الفعّال ذو الشكل الجسامي المحدد. ويكون الموقع الفعال غالباً بشكل أخدود أو جيب في الجزء القريب من سطح الأنزيم، بحيث يلائم جزيئة مادة الاساس. وبناءاً على هذا فإن هناك فرضيتان شائعتان تتضمنان إتحاد المادة الاساس بالموقع الفعّال للانزيم.

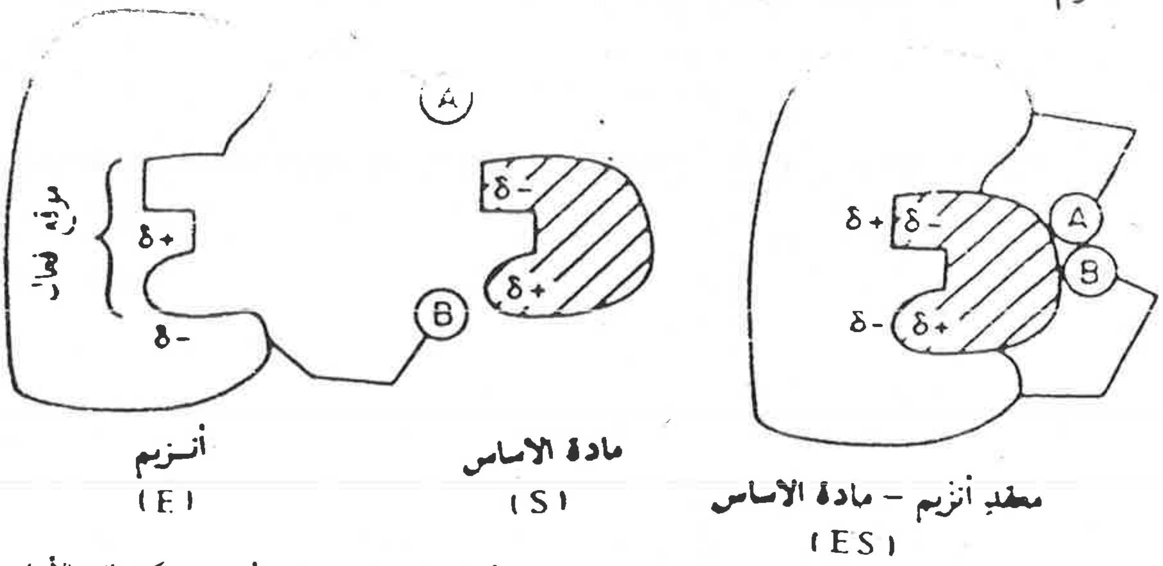
أ- فرضية القفل والمفتاح Lock and Key hypothesis

إقترح فيشر Fisher عام 1890، انه في التخصص الأنزيمي يتوجب وجود تراكيب مكملة واحدة للأخرى بين الأنزيم والمادة الاساس. وهكذا يقترن الأنزيم بمادة الأساس أثناء عملية التحفيز بشكل يكون فيه الموقع الفعال للأنزيم موافقاً (مكملاً) تماماً للمادة الاساس، وهو بهذا يشبه لحد ما توافق (عمل) القفل والمفتاح. واثناء هذه العملية يصبح معقد أنزيم- مادة اساس (E-S)، لهُ تركيب فضائي مجسم جديد وفعّال. وبهذا تتحور مادة الأساس المُرتَّبة، لتصبح مادة جديدة (ناتج) تتحرر بعدها من الأنزيم الذي يستعيد شكلهُ الأصلي عندئذٍ (شكل 6-2).

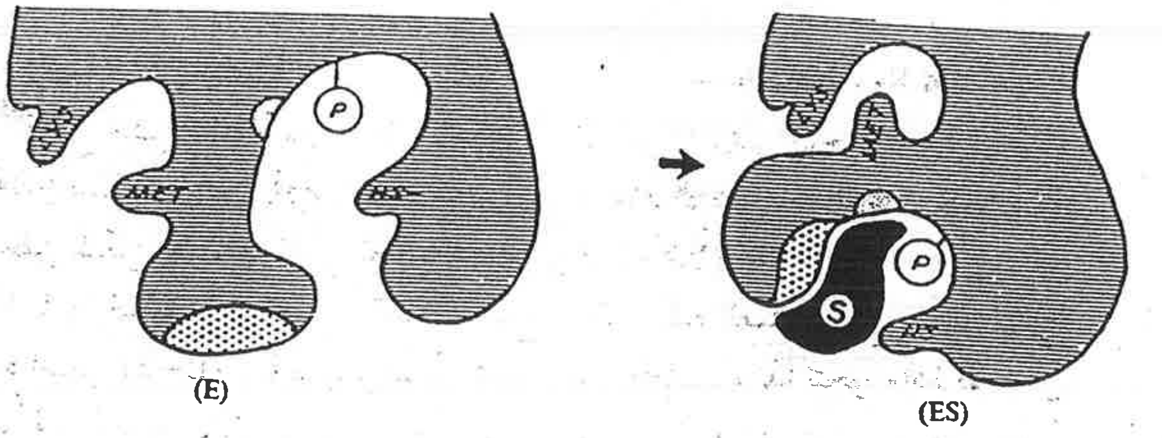
ب- فرضية كوشلاند(التوافق المستحث) Koshland (Induced- Fit) Hypothesis

إقترح كوشلاند فرضية التوافق (التلاؤم) المستحث induced fit عام 1958، وهي تحوير لفرضية القفل والمفتاح. حيث يفترض بأن كلاً من الموقع الفعال والمادة الأساس تمتلك نوعاً من المرونة، وإن تركيب الموقع الفعّال يكون مقارباً فقط لتركيب المادة الاساس. وعند حدوث الإتحاد لتكوين معقد انزيم- مادة اساس، يحدث تغير طفيف

للهيئة الجسامية للأنزيم ، يُحَسّن من التلاؤم مع المادة الاساس ، ويؤدي الى تحويل معقد أنزيم – مادة اساس الى صورة أكثر فعالية ، فتؤدي الى تكوين الناتج ؛ الذي يتحرر من الأنزيم ، وبهذا يستعيد الأنزيم شكلهُ الاصلي. شكل (6 – 3).



شكل (6 – 2) نموذج القفل والمفتاح للتداخل بين المادة الاساس والأنزيم . يتفق الموقع الفعال للأنزيم مع شكل المادة الأساس الأصل ص 121 المقرر



شكل (3-6) نموذج التوافق المستحث للتداخل بين المادة الاساس والأنزيم. تتلائم جزيئة الأنزيم عند إرتباطها مع المادة الأساس ويتخذ الموقع الفعال شكلاً مطابقاً للمادة الأساس بعد الارتباط بها.

تسمية الأنزيمات
Nomenclature of enzyme

يتألف اسم الأنزيم على وحه العموم من قسمين. الأول هو أسم مادة الأساس التي يعمل عليها ذلك الأنزيم أو احيانا اسم الناتج. والقسم الثاني يصف نوع التفاعل المحفز، وينتهي عادة بالمقطع يس (ase).وقد عين الأتحاد العالمي للكيمياويين الحياتيين

recommended الأسم المعتمد International Union of Biochemistry (IUB) name لكل انزيم كي يحل محل الأسم القديم الذي أطلق على ذلك الأنزيم عند اكتشافه لأول مرة. كما أن (IUB)؛ قد عيّن أيضاً إسماً نظامياً لكل أنزيم، وهو اسم مطول فيه أربعة أرقام نظامية دالّة، يسبقه الاختصار E.C. (Enzyme Commission). ويشير الرقم الأول [illegible] الى إسم أحد الأ[illegible] [illegible] الست الرئيسة للأنزيمات (انظر جدول 6 – 1). ويشير الرقم الثالث الى اسم الصنف ثانوي – الثانوي sub-subclass للصنف الرئيس للأنزيم. أما الرقم الرابع فهو رقم تسلسلي يتعين فيه إسم الأنزيم في صنفة ثانوي – الثانوي. يستخدم الأسم النظامي Systamatic names المفصل للوصف التشخيصي الدقيق للتفاعل المحفز من قبل ذلك الأنزيم في المراجع العلمية العالمية، بينما يستخدم الاسم المعتمد في الاستعمالات العامة. وفي هذا الكتاب تستخدم عموماً الأسماء المعتمدة للأنزيمات.

ان التسمية النظامية للأنزيمات والتي وضعت حسب توصيات الاتحاد العالمي للكيمياويين الحياتيين عام 1972 تشمل ما يأتي:

تقسم الأنزيمات الى ستة أصناف (classes) حسب طبيعة التفاعل الذي تحفزه هذه العوامل المساعدة:

1– الأنزيمات المؤكسدة – المختزلة Oxido- reductase وهي تشمل جميع الأنزيمات التي تعمل في تفاعلات الأكسدة. مثل أنزيم كحول: NAD^+ أوكسيدوريداكتيس alcohol: NAD^+ oxidoreductase (كحول ديهايدروجينيس alcohol dehydrogenase) والمرقم 1.1.1.1. وهذا الأنزيم يعمل على مجموعة CHOH الواهبة للالكترونات (1.1) ومجموعة الـ NAD^+ المستقبلة للألكترونات (1.1.1).

$$Alcohol + NAD^+ \longrightarrow Aldehyde + NADH + H^+$$

2– الأنزيمات الناقلة Transferase وهي تشمل جميع الأنزيمات التي تعمل على نقل مجموعة كيمياوية من مادة أساس لأخرى. مثل نقل مجاميع الأمين، المثيل، الألكيل. الأسيل أو نقل مجاميع تحتوي على فوسفور أو كبريت. مثل أنزيم ATP: كرياتين فوسفوترانسفيريس ATP: creatin phosphotransferase (كرياتين كينيس creatin kinase) والمرقم EC 2.7 . 3.2. حيث يشير الرقم الأول (2) لإسم

صنف الأنزيم (ترانسفيريس transferases). ويشير الرقم الثاني (7) لاسم الصنف الثانوي للأنزيم (فوسفوترانسفيريس phosphotransferases). وهو الناقل لمجموعة فوسفات. ويشير الرقم الثالث (3) لاسم الأنزيم ثانوي الثانوي (فوسفو ترانسفيريس؛ حيث تكون مجموعة نتروجينية مثل الكرياتين، مستقبلاً لمجموعة الفوسفات. أما الرقم الرابع (2) فهو رقم تسلسلي يحدد اسم كرياتين كينيز:

ATP + Creatine → ADT + Phosphocreatine

3 – الأنزيمات المميئة Hydrolases. وهي تشمل جميع الأنزيمات التي تعمل في تفاعلات التحلل المائي. وهي تتضمن الأنزيمات الهاضمة enzymes digestive مثل الأمايليس amyalse والسكريس sucrase والليبيس lipase وكذلك أنزيمات البروتييس proteases. فأنزيم ليبيس البنكرياسي Pancreatic lipase يشار له بالرقم 3.1.1.3 حيث الرقم (3) يشير الى ان الأنزيم مميء وهو يعمل على أواصر الأستر (3.1) وهي أواصر كاربوكسيلية.

Triacylglycerol ⟶ Diacylglycerol + Fattyacid

4 – الأنزيمات الفاصلة بدون تميؤ lyases. تشمل جميع الأنزيمات التي تعمل على حذف مجاميع كيمياوية بدون تميؤ. حيث تزيح مجموعة من مادة أساس لتكوين أصرة ثنائية أو تضيف مجموعة الى الأصرة الثنائية للمادة الأساس، لينتج أصرة منفردة. وتعمل الأنزيمات على الأواصر C-C ,C-N ,C-S و C-O. مثال أنزيم 2 – ؛ اوكسوأسيد كاربوكسي – لايبيس 2-oxoacid carboxy lyase (بايروفيت ديكاربوكسيليس pyruvate decarboxylase) المرقم نظامياً 4.1.1.1 وهو يعمل على الأصرة C-C (4.1) حاذفاً مجموعة كاربوكسيل (4.1.1):

Pyravate (2- Oxoacid) ⇌ aldehyde + CO_2

5 – الأنزيمات المناظرة (المماثلة) Isomerases. تشمل الأنزيمات التي تعمل على تغير أحد متناظرات مركب ما الي متناظر آخر له. كأنزيمات سيس – ترانس أيسوميريس cis-trans isomerases وأنزيمات إيبميريس epimerases. مثال، انزيم ريتينال ايسوميريس retinal isomerase (الذي يتعلق بعملية الابصار) والمرقم (5.2. 1.3) حيث يشير 5.2 الى سيس – ترانس ايسوميريس cis-trans.isomerase ويشير الرقم 5.2.1 الى سيس – ترانس ايسوميريس الذي يعمل على متعدد هيدروكاربونات غير مشبعة polyunsaturated hydrocarbons :

all – trans – Retinal ⟶ 11 – cis – Retinal

جدول (6 – 1)

التصنيف النظامي العالمي للأنزيمات

---

1. انزيمات مؤكسدة – مختزلة Oxido - reductases

1.1 تعمل على اكسدة -- C -- OH

1.2 تعمل على اكسدة -- C = O

1.3 تعمل على اكسدة -- CH = CH --

1.4 تعمل على اكسدة -- CH -- NH_2

1.5 تعمل على اكسدة -- CH -- NH --

1.6 تعمل على اكسدة NADPH : NADH

2. انزيمات ناقلة Transferases

2.1 تنقل مجاميع ذو ذرة كاربون واحدة

2.2 تنقل مجاميع ألديهايد أوكيتون

2.3 تنقل مجاميع أسايل

2.4 تنقل مجاميع كلايكوسايل

2.7 تنقل مجاميع فوسفات

2.8 تنقل مجاميع حاوية S –

3. أنزيمات مميئة Hydrolases

3.1 تعمل على تميىء الاستر

3.2 تعمل على تميىء الاواصر الكلايكوسيدية

3.4 تعمل على تميىء الاواصر الببتيدية

3.5 تعمل على تميىء الاواصر C – N الأخرى

3.6 تعمل على تميىء الحامض اللامائي acid anhydrides

4. انزيمات فاصلة بدون تميؤ Lyases

4.1 تعمل على -- C = C --

4.2 تعمل على -- C = O

تكملة جدول (١)

4.3 تعمل على	$-C=N-$
[illegible]	Isomerases
[illegible]	[illegible]
6. أنزيمات مكونة	Ligases
6.1 تعمل على تكوين	C -- O
6.2 تعمل على تكوين	C -- S
6.3 تعمل على تكوين	C -- N
6.4 تعمل على تكوين	C -- C

6- الأنزيمات المكونة ligases. وهي الأنزيمات التي تعمل على ربط (تكوين اصرة) بين جزيئين معا او ربط نهايتي جزيء واحد لتكوين شكل حلقي. وتقترن التفاعلات المحفزة بهذه الانزيمات بتكسر اصرة بايروفوسفات pyrophosphate bond لل ATP (ادينوسين ثلاثي الفوسفات. الفصل الثامن) او لنيوكليوتيد مشابه. مثال، الانزيم تايروسين: t RNA -ليكيس tyrosine: t RNA ligase اوتايروسايل tRNA: سينثيتيس tyrosyl.:tRNA Synthetase الرقم 6.1.1.1. حيث يعمل هذا الانزيم على ربط جزيئين معاً مكوناً اواصر C — O (6.1) او بصورة اكثر دقة، فان أنزيم حامض أميني: RNA – ليكيس RNA amino acid ligase يكون الأواصر C-O (6.1.1)

$$ATP + L\text{-}Tyrosine + tRNA \longrightarrow AMP + P_iP_i + L\text{-}Tyrosyl\text{-}tRNA$$

أنواع الأنزيمات حسب التسمية المعتمدة والمستعملة غالباً (انظر الفصول (10-14)

1 – أنزيمات ألدوليس Aldolase. تعمل على فصم أوغلق الآصرة C-C لتكوين مجموعة ألديهايد.

2– كاربوكسيليس Carboxylase. تعمل على اضافة CO_2 أو HCO_3^- الى مادة الأساس لتكون مجموعة كاربوكسيل.

3- ديكاربوكسيليس Decarboxylase. تعمل على فصم مجموعة الكاربوكسيل من مركبات مثل أحماض α -كيتو α-Keto acids ، بشكل CO_2.

4- استريس Esterase. تعمل على تحلل أصرة الاستر لتكون كحول وحامض.

5- هايدراتيس Hydratase. تعمل على اضافة الماء الى الاصرة الثنائية C=C بدون كسر الأصرة ، أو تزيح H_2O من المادة الأساس لتكوين C=C.

وغالبا مايشير المقطع (يس) "ase" الى انزيم هايدروليس ، مثلا سكريس sucrase يشير للأنزيم المحلل للسكروز.

7- هايدروكسيليس Hydroxylase. تعمل على ادخال ذرة اوكسجين من O_2 الى المادة الأساس لتكوين مجموعة هيدروكسيل.

8- ايسوميريس Isomerase تعمل على تحويل المتماثلات او المتناظرات isomers المتقابلة المجاميع trans الى المتماثلات جانبية المجاميع (Cis) او بالعكس ؛ أو التحويل من المتماثلات D الى L وبالعكس وكذلك التحويل من المتماثلات ألدوز الى كيتوز وبالعكس.

9- كينيس Kinase. تعمل على نقل مجموعة الفوسفات من مركبات فوسفات غنية بالطاقة مثل الـ ATP الى مادة الأساس أو بالعكس. وان انزيمات فوسفورايليس(phosphorylase) تعمل على اضافة مجموعة فوسفات لاعضوية Pi الى مادة الأساس.

10- ليكيس Ligase، تعمل على ربط جزيئتين معاً او ربط نهايتي جزيئ واحد باستعمال الطاقة المتحررة من تحلل آصرة فوسفات لمركب غني بالطاقة. وتدعى أحياناً بأنزيمات التركيب الحياتي Synthetase.

11- لاييس Lyase تعمل على اضافة مجاميع الى الأواصر الثنائية (بغير واسطة التميؤ) أو تزيح مجاميع (غير عناصر الماء) لتكون أصرة ثنائية.

12- ميوتيس Mutase تعمل على تحويل (تغيير) موقع مجموعة ما للمادة الأساس. مثلاً ازاحة مجموعة CH_3 من موقع الى آخر ضمن الجزيئ للمادة الأساس.

13- أوكسيديس Oxidase. تعمل على اضافة O_2 الى ذرات هيدروجين مزاحة من المادة الأساس (التي تأكسدت). لتكون H_2O أو H_2O_2 أو O_2 (فوق الأوكسيد superoxide).

14 – أوكسيجينيس Oxygenase تعمل على ادخال جزيء O_2 الى مادة الأساس.

15 – ببتيديس Peptidase. تعمل على تحلل الأواصر الببتيدية لتكون أحماض امينية وببتيدات أصغر.

16 – فوسفاتيس Phosphatase. تعمل على تحلل مادة اساس مثل الاسترات الفوسفاتية لينتج [illegible] (HPO_4^{2-}).

17 – فوسفورايليس Phosphorylase. تعمل على اضافة مجموعة فوسفات لاعضوية Pi لفصم آصرة ما.

18 – ريداكتيس Reductase. تعمل على اختزال المادة الاساس العائدة لها (يعني تضيف ذرات هيدروجين الى مادة الأساس).

19 – سلفاتيس Sulphatase. تعمل على تحلل مواد اساس مثل استرات حامض الكبرتيك. لتحرر مجموعة السلفات (الكبريتات).

20 – سينثيس Synthase. تعمل على ربط جزيئتين مع بعض بدون تحلل آصرة بايروفوسفات Pyrophosphate.

21 – ترانس أمينيس Transaminase. تعمل على نقل مجموعة الامين من الأحماض الأمينية الى احماض كيتو (وتعرف أيضاً بـ أمينوترانسفيرنيس aminotrans-ferase).

22 – ترانسفيريس Transferase. تعمل على نقل مجاميع غير ذرات الهيدروجين، مثل مجاميع فوسفات. عندها تسمى فوسفوترانسفيريس phospho trans ferase، او مجموعة مثيل فتسمى مثيل ترانسفيريس methyltransferase وهي تحفز عملية النقل هذه من جزيء الى جزيء آخر.

علم الحركة للأنزيمات Enzyme Kinetics

ان علم الحركة (حركية) الأنزيمات، عبارة عن دراسة سرع التفاعلات الأنزيمية والعوامل المؤثرة عليها.

العوامل التي تؤثر على فعالية الأ ... Factors aff

هناك عدة عوامل تؤثر على ...

1– تأثير الأس الهيدروجيني عل ... Effect of p

قد تكون هناك شحنات كه ... ـتقال للانزيم
عند قيم pH عالية أو واطئة . مما ... تنافر كهربائي
من شانه أن يعمل على زيادة أو ... وبهذا ، فان
لكل أنزيم رقم هيدروجيني ... (الاقصى)
optimal pH values ، تكون ع ... ـباً ماتكون الـ
pH المثلى او القصوى قيمتها مقار ... الانزيم . مثلاً
أنزيم البيبسين pepsin الذي يفرز ... 2.0 (وقيمة
الـ PH المعدية هي 3.2) . والأنز ... ـدما يصب في
الاثني عشري تكون الـ pH المثلى ... (7 .
وتقل فعالية الانزيم فوق او تحت

الشكل :

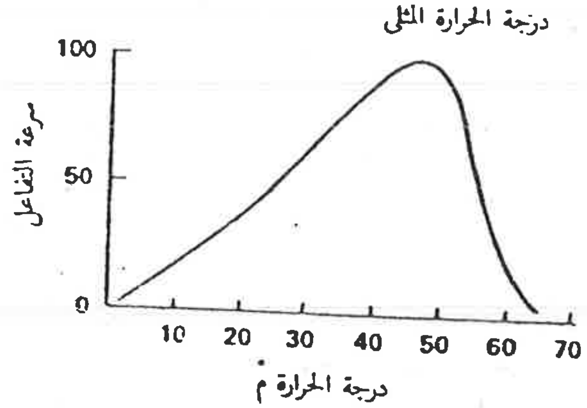
2– تأثير درجة الحرارة على فعا ...

Effect of tem

ان ارتفاع درجة الحرارة يز ... ا الارتفاع للحد
الذي يؤدي الى مسخ الانزيم (... ان ارتفاع درجة
الحرارة مبدئياً يعمل على زيادة ... ازدياد الاحتكاك

بين الانزيم والمادة الاساس مما يسبب زيادة سرعة التفاعل. ان مدى الفعالية لمعظم الانزيمات يقع بين 10-50 مْ ؛ وعندما تزيد درجة الحرارة اكثر فان الانزيم يبدأ بفقدان خواصه الطبيعية حيث تتفكك الاواصر الهيدروجينية والقوى الاخرى المسؤولة عن ثباتية [illegible] (5-6).

وان الدرجة الحرارية التي يكون عندها التفاعل الانزيمي في سرعته القصوى ، تطلق عليها درجة الحرارة المثلى لذلك الانزيم.



الشكل (6—5) تأثير درجة الحرارة على فعالية الانزيم

3- تأثير تركيز المادة الاساس على فعالية الانزيم

Effect of substrate concentration on enzyme activity

ان فرضية تكوين المعقد انزيم - مادة اساس (ES) كحالة انتقالية في التفاعلات الانزيمية ، كانت من قبل العالمان ميكايلس ومينتين Michaelis and Menton عام 1918 حسب المعادلة البسيطة التالية :

$$\underset{\text{انزيم}}{E} + \underset{\text{مادة اساس}}{S} \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} \underset{\text{معقد انزيم-مادة اساس}}{E-S} \xrightarrow{K_2} E + \underset{\text{نواتج}}{P}$$

عند ابقاء تركيز الانزيم ثابتاً، وعند التركيز الواطىء من المادة الاساس، فإن سرعة التفاعل الانزيمي (السرعة الاولية initial velocity) تزداد بازدياد تركيز المادة الاساس. لكنه عند الاستمرار في زيادة تركيز المادة الاساس، فإن الزيادة في معدل السرعة تتباطئ الى ان تصبح السرعة ثابتة، بالرغم من زيادة تركيز المادة الاساس اكثر. ويطلق على هذه

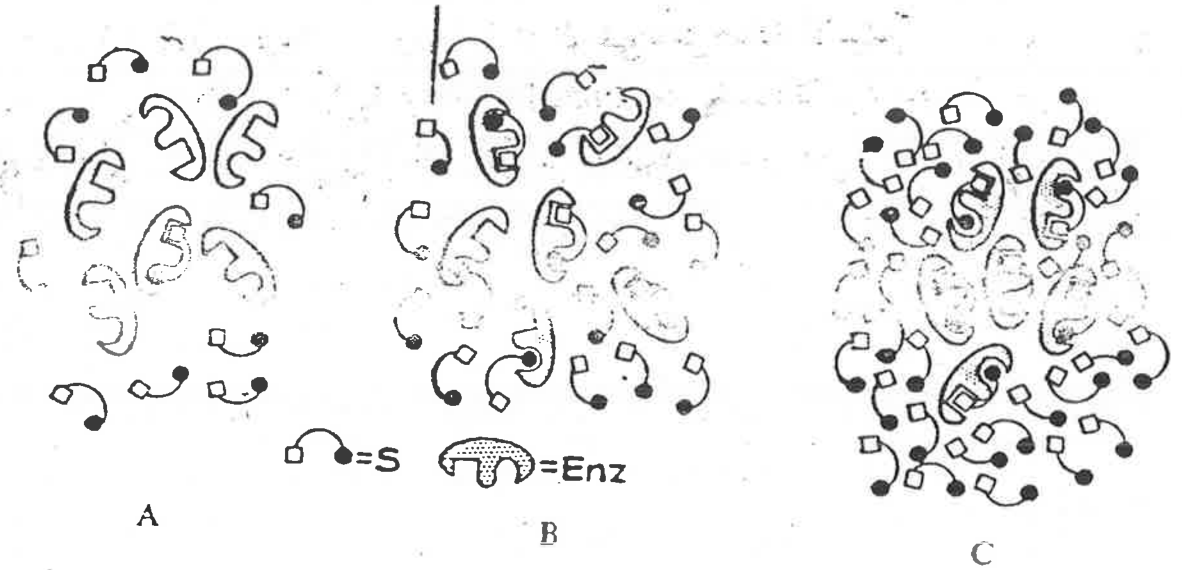
. maximum velocity

لقد قام العالمان ميكايلس وميتنون بتفسير العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي وتركيز المادة الاساس، فأوضحا انه عند استخدام تراكيز واطئة جداً من المادة الاساس في بداية التفاعل، تكون المواقع الفعالة لجزيئات الانزيم غير مشبعة بجزيئات المادة الاساس، وعليه فإن سرعة التفاعل (السرعة الاولية) تعتمد على تركيز المادة الاساس، ويعبر عنها بحركية احادي الرتبة First order kinetic. وعند زيادة تركيز المادة الاساس الى درجة كبيرة، بحيث تصبح المواقع الفعالة لجزيئات الانزيم مشبعة دائماً بجزيئات المادة الاساس (حيث تقترن بصورة مستمرة جزيئات الاساس الموجودة بوفرة، بالمواقع الفعالة لجزيئات الانزيم، حالما تتحرر جزيئات الناتج من الانزيم، وهكذا يكون الانزيم في حالة تشبع دائماً)، وتكون سرعة التفاعل في هذه الحالة غير معتمدة على تركيز المادة الاساس، ويعبر عنها بحركية صفر الرتبة Zero order kinetic. وان الرسم البياني بين تركيز المادة الاساس وسرعة التفاعل يكون بشكل منحني ذي قطع مخروطي (هايبربولك، hyperbolic) (شكل 6–6– ب). إن هذه الخاصية الحركية تتميز بها الانزيمات فقط دون غيرها من المحفزات.

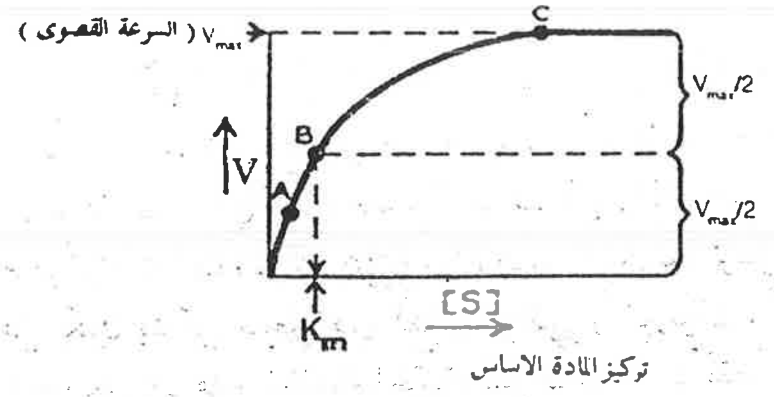
ان المعادلة الرياضية التي توضح العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي وتركيز المادة الاساس والتي تحقق شكل منحني ذي قطع مخروطي hyper bolic، يطلق عليها معادلة ميكايليس – مينتين Mechaelis – Menten equation :

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

حيث V، سرعة التفاعل (السرعة الاولية)، [S] تركيز مادة الاساس، V_{max} السرعة الاولية القصوى، K_m ثابت ميكايليس Mechaelis constant وهو عبارة عن تركيز المادة



شكل (6—6— أ) يمثل جزيئات الانزيم بوجود المادة الأساس وتركيز واطئ (A) تركيز متوسطة يساوي Km (B) تركيز عالٍ جداً (C) وهذا متفق مع شكل 6-6ب).



شكل (6—6— ب) تأثير مادة الاساس على سرعة التفاعل، عند ابقاء تركيز الانزيم ثابتاً

الاساس عندما تكون سرعة التفاعل ، تساوي نصف السرعة القصوى ، وهذا يمكن بيانه كما يأتي :

عندما يكون $K_m = [S]$ فإن :

$$V = \frac{V_{max} K_m}{K_m + K_m} = \frac{V_{max} K_m}{2 K_m} = \frac{V_{max}}{2}$$

إن القيمة العالية لـ K_m تشير الى ان للانزيم ميلاً (إلفة affinity) قليلاً للمادة الاساس ، بينما القيمة الواطئة لل K_m ، تشير الى ان للانزيم ميلاً كبيراً للمادة الاساس، وتعتمد قيمة K_m على نوعية المادة الاساس والرقم الهيدروجيني لمحلول التفاعل ودرجة الحرارة . وتتراوح قيمة K_m لمعظم الانزيمات بين $10^{-1} - 10^{-6}$ M (مولار) .

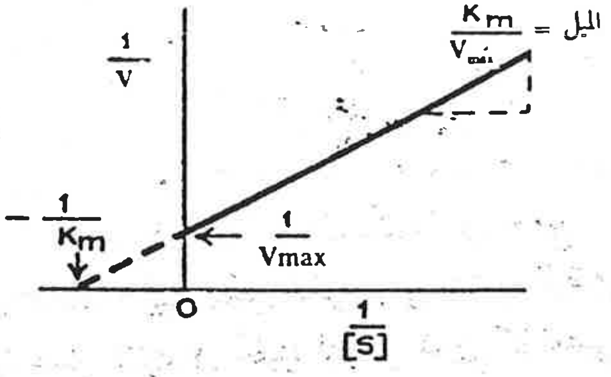
$\frac{1}{v} = \frac{Km}{vmax} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{vmax}$

The Lineweaver — Burk plot رسم لينويفر - بيرك البياني

عند اخذ القيمة العكسية لطرفي معادلة ميكايلس - ميتين اعلاه ، واعادة ترتيبها ، نحصل على معادلة لينويفر - بيرك Lineweaver — Burk equation :

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

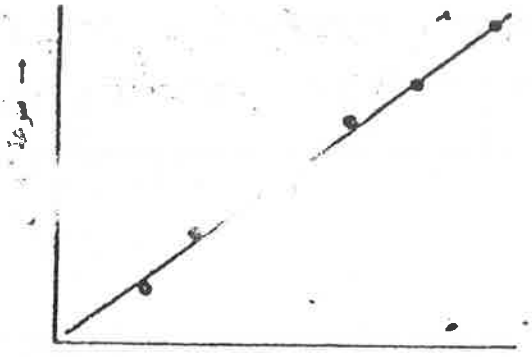
وهذه المعادلة تمثل خطاً يحصل عليه بوساطة رسم V/1 مقابل [S]/1 (شكل 6—7) . يمكن ايجاد كلاً من V_{max} و K_m بدقة من هذا الرسم ، ودون الحاجة الى ايجادها بالطريقة المختبرية . كما يستفاد من الرسم عند دراسة المثبطات وانواعها .



شكل (6-7) رسم لينويفر - بيرك لتفاعل أنزيمي معين.

4 - تأثير كمية الانزيم على الفعالية الأنزيمية
Effect of enzyme concentration on enzymatic activity

عند استعمال انزيم نقي لحد ما ، فإن سرعة التفاعل تتناسب طردياً مع تركيز الانزيم ضمن مدى واسع (شكل 6—8) . وينبغي في هذه الحالة استعمال تركيز ثابت من مادة الاساس وبمقدار فائض عن حاجة الانزيم . ويمكن استخدام هذه العلاقة لقياس كمية انزيم ما في مستخلص لنسيج معين او في سائل بايولوجي معين. فعند ظروف ملائمة تشتمل على تركيز المادة الاساس ($K_m \times 100$) ودرجة الحرارة و pH مثليين . فان سرعة الفعالية تتناسب مع كمية الانزيم الموجود .



شكل (6-8) تأثير كمية الانزيم على الفعالية الانزيمية

Enzyme Inhibition

تثبيط الانزيم

يمكن تثبيط (خفض سرعة التفاعل الانزيمي او إيقافه) فعالية الانزيم، برفع درجة الحرارة أو بتغيير الـ pH او إضافة إحدى مرسبات البروتين المختلفة (الفصل الخامس). غير ان هناك عملية تثبيط للانزيم اكثر تخصصاً، وذلك باضافة مواد كيمياوية معينة، تدعى المثبطات inhibitors، وذلك من خلال تأثيرها على مجاميع معينة للانزيم او للنظام الانزيمي. ومن خلال دراسة التثبيط يمكن التعرف على المجاميع الوظيفية الموجودة في الموقع الفعال الانزيم، وآلية عمل الانزيم في تحفيزه لتفاعل معين. كما تعطي مثبطات الانزيمات معلومات مفيدة في توضيح المسارات الحياتية المختلفة، وتوضح المثبطات ايضاً عمل بعض العقاقير والمواد السامة، والمبيدات.

وفيما يلي الانواع الشائعة للتثبيط

Reversible inhibition

1 – التثبيط العكسي

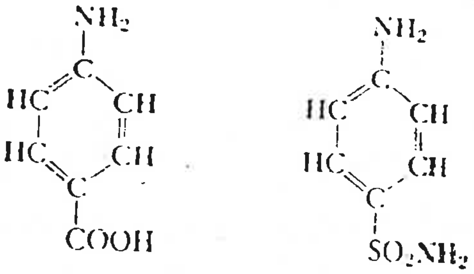
إن المثبطات العكسية reversible inhibitors، هي التي تتحد مع الانزيم مباشرة ويمكن إزالتها بعملية الفرز الغشائي dialysis او بالتخفيف، وبهذا تسترجع الفعالية الانزيمية. من أنواع التثبيط العكسي:

Competitive inhibition

أ– التثبيط التنافسي

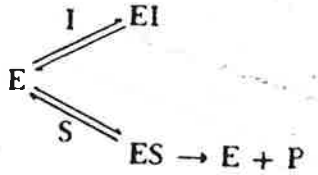
في هذا النوع من التثبيط، غالباً مايكون التركيب الكيمياوي للمثبط مشابهاً لتركيب المادة الاساس لذلك الانزيم. وبهذا فان هذا المثبط يتنافس مباشرة مع المادة الاساس لاحتلال الموقع الفعال للانزيم المعين وتكوين المعقد EI. مثلاً، المثبط التنافسي سلفانيل

أميد Sulfanilamide تركيبه مشابها للمركب حامض P- أمينو بنزويك ...
البكتريا) وهو المادة الاساس للانزيمات المشاركة في تخليق المرافق الانزيمي الفعال تيتراهايدروفوليت tetrahydrofolate (انظر المرافقات الانزيمية، الفصل 7 والتكوين الحياتي للبيورين، الفصل الرابع عشر) في البكتريا. وبهذا يستخدم هذا المثبط كعلاج [illegible] على تركيز المثبط والمادة الاساس. فكلما [illegible]



حامض P أمينوبنزويك   سلفانيل أميد

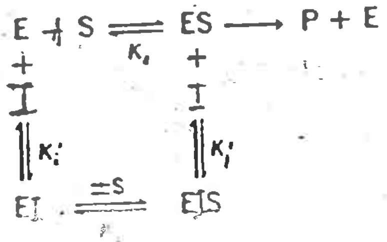
ويستعمل غالباً رسم لينويفر- بيرك للتحقق من التثبيط التنافسي او غيره. في التثبيط التنافسي يتفاعل المثبط (I) مع الانزيم (E) عكسياً، ليتكون المعقد غير الفعال (EI). وإن سرعة تكوين ناتج التفاعل تعتمد على تركيز المعقد الفعّال ES.



وكلما كان هناك كمية وافية من المادة الاساس في التفاعل، فانه سيحصل على نفس قيمة V_{max}، غير ان قيمة K_m ستزداد بازدياد تركيز المثبط التنافسي. (شكل 6-9- أ). وهكذا يمكن التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز المادة الاساس للتفاعل الانزيمي المعين.

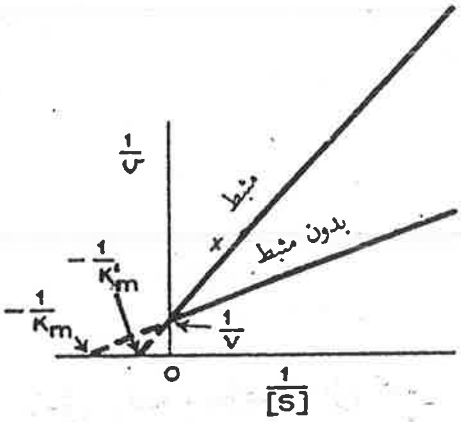
ب. التثبيط غير التنافسي العكسي Reversible noncompetitive inhibition

في التثبيط غير التنافسي، يكون تركيب المثبط، لايشابه تركيب المادة الاساس، او قد يشابهه قليلاً. يرتبط المثبط غير التنافسي عادة مع الانزيم في موقع آخر يختلف عن الموقع الفعال، وبغض النظر فيما اذا كان ذلك الانزيم حراً او مرتبطاً بمادة الاساس. وفي هذه الحالة يكون بالامكان تكوين كلاً من المعقد EI و EIS، كما في المعادلات التالية:

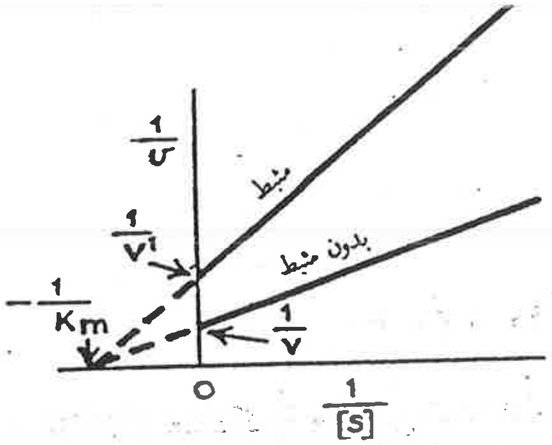


لتحلل ES ، وبهذا يكون التفاعل الانزيمي المعين أبطا مما هو عليه بغياب هذا النوع من المثبطات.

ان إرتباط هذا النوع من المثبطات بالانزيم يؤدي الى تحريف جزيء الانزيم بعض الشيء وخفض فعاليته وهكذا فان المثبطات غير التنافسية العكسية ، تقلل من قيمة V_{ma} بينما لاتؤثر على قيمة K_m للتفاعل الانزيمي المعين (شكل 6 – 9 – ب) وذلك على فرض ان المادة الاساس لها نفس الميل affinity للارتباط مع كل من E و EI.



شكل (6 – 9 – أ) رسم لينويفر – بيرك للتثبيط التنافسي



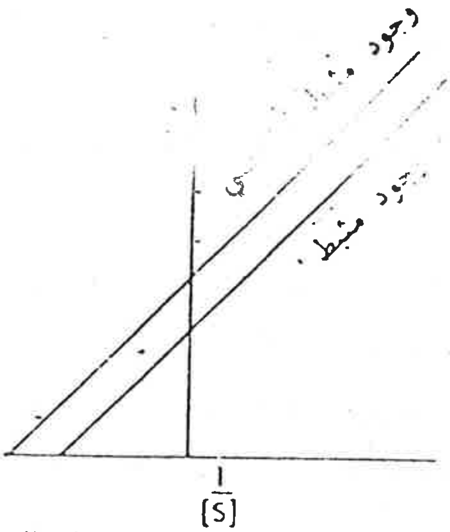
شكل (6 – 9 – ب) رسم لينويفر – بيرك للتثبيط غير التنافسي العكسي

جـ – التثبيط اللاتنافسي **Uncompetitive inhibition**

يتحد المثبط اللاتنافسي في هذه الحالة مع المعقد ES فقط ، لتكوين EIS كما هو موضح في المعادلة التالية

$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow P + E$$
$$ES + I \rightleftharpoons EIS$$

على المعقد EIS. في هذا النوع من التثبيط ، تنخفض قيمة السرعة القصوى وكذلك قيمة K_m للتفاعل الانزيمي المعين (شكل (6 – 9 – ج).



شكل (6 – 9 –ج): رسم لينويفر– بيرك للمثبط اللاتنافسي

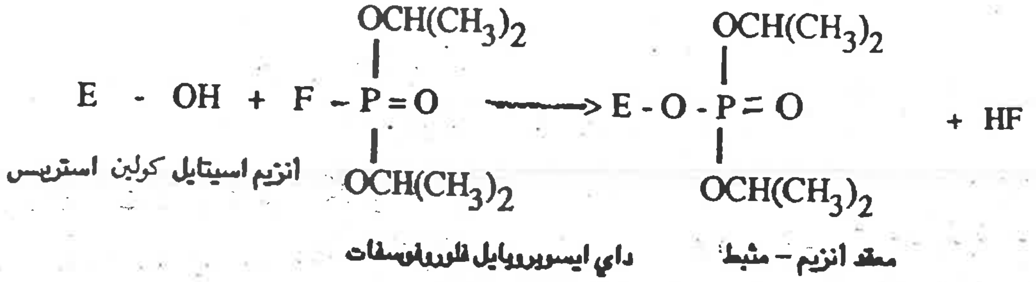
٢ – التثبيط غير العكسي (تسمم الانزيم).

Irreversible inhibition (Poison of enzymes)

هناك مثبطات (سموم) غير عكسية للانزيمات ، مختلفة ، مثل المركب أيودو اسيتاميد iodoacetamide ، ايونات المعادن الثقيلة (مثل Ag^+ ، Hg^{2+} ، التي تتحد بقوة مع مجاميع ثايول لبعض الانزيمات) ، السيانيد والمواد المؤكسدة. إن المثبطات غير العكسية تتحد بقوة مع الانزيم ، بحيث لايمكن فصلها عن الانزيم بالتخفيف او عملية الفرز الغشائي ، وهذا الارتباط يؤول الى تحريف الانزيم وخفض فعاليته ثم توقفها كلياً.

إن تركيب هذه المثبطات لايشابه تركيب مادة الاساس ، لذا فان زيادة تركيز مادة الأساس لايلغي تأثير عمل هذه المثبطات. غير أن وجود مادة اساس واحدة (او أكثر) او ناتج (او اكثر) من ذلك التفاعل الانزيمي ، قد يحمي الانزيم من تأثير هذه المثبطات. إن رسم لينويفر– بيرك للتفاعل الانزيمي المعين بوجود هذه المثبطات الغير عكسية ، يكون مشابهاً للرسم المستحصل عليه في حالة التثبيط غير التنافسي العكسي (شكل 6–9–ب). وفي هذا النوع من التثبيط يقال عن الانزيم انه قد تسمم بالمثبط. من الأمثلة الاخرى على المثبطات غير العكسية ، هو الغاز السام للأعصاب ، داي ايسوبروبايل

فلوروفوسفات diisopropylflurophosphate (DFP) الذي يثبط الأنزيم ابيتايل كولين إستريس acetylcholineesterase (المهم في نقل النبضات العصبية). يرتبط المثبط غير العكسي DFP تساهمياً مع مجموعة الهيدروكسيل للحامض الاميني سيرين، الذي يكون له اهمية كبيرة في الموقع الفعّال لانزيم اسيتايل كولين إستريس كما هو موضح [illegible]اعل التالي. [illegible] نزيم قد تحور كيمياويا ولا يستطيع القيام بعمله بصورة [illegible] العقاقير تعود الى عملها كمثبط نوعي [illegible] الانزيمات المعينة في انسجة الجسم. وقد تعمل المضادات الحيوية antibiotics على إثباط تفاعلات انزيمية في الكائنات المجهرية. كما تشتمل مبيدات الاعشاب herbicides ومبيدات الحشرات insecticides في عملها على آلية التثبيط ذاتها. وقد استخدم التثبيط الانزيمي لاغراض مدمرة مثل استخدام السيانيد الذي يعمل مثبطاً لانزيم سايتوكروم أوكسيديس المهم في عملية التنفس الخلوي. وكذلك مثل الغازات السامة toxic gases المستخدمة في الحروب والتي تعمل في تثبيط انزيمات رئيسة.

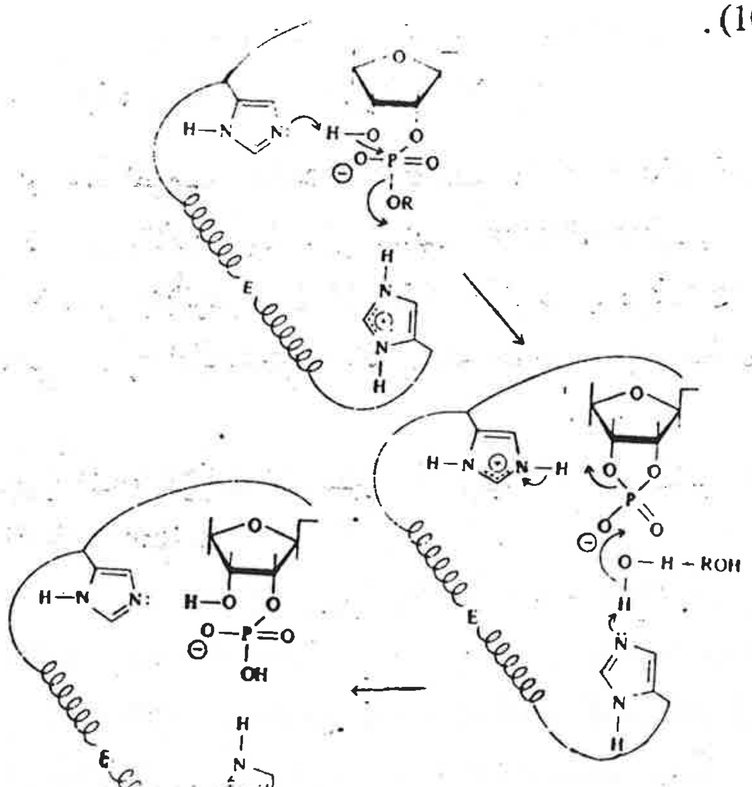


آلية عمل الانزيم Mechanism of enzyme action

ان احدى الطرق لفهم آلية عمل الانزيم والتي أدت الى معلومات قيمة، هي دراسة التحفيز غير الانزيمي لتفاعلات نموذجية مشابهة للتفاعلات التي تحدث في الخلية. وفي مثل هذه التفاعلات المحفزة، وجد ان الاحماض والقواعد (واهبات ومستقبلات البروتون) هي مواد حفازة تعمل على تعزيز سرع انواع مختلفة من التفاعلات العضوية مثل التحلل المائي للاسترات والمركبات المفسفرة واضافة الماء الى مجاميع الكاربونيل، وازالة الماء من الكحولات لينتج مركبات غير مشبعة. وان بعض الانزيمات معروفة باحتوائها على مجموعات واهبة للبروتون مثل $-NH_3^+$ والكاربوكسيل $-COOH$ ومجموعة سلفهايدريل ($-SH$)، وتحتوي كذلك على مجاميع مستقبلة للبروتونات مثل $\ddot{N}H_2$ ومجاميع $-COO^-$.

المجموعات المحبة للنواة Nucleophiles هي ايضاً مواد محفزة ، مؤثرة وهي مجموعات فعّالة غنية بالالكترونات وتهب زوجاً من الالكترون الى نواة ذرة اخرى. مثل مجموعات الهيدروكسيل والسلفهايدريل والاميدازول imidazole وهذه ايضاً معروفة بوجودها في البروتينات .وقد تعمل هذه المجموعات الفعالة مواد محفزة تدخل في تركيب الموقع الفعّال للانزيمات المختلفة.

والطريقة الاخرى لفهم الية التحفيز هي تمييز(التعرف) على المجموعات الكيمياوية للمواقع الفعالة والتي تشترك في عملية التحفيز مثلاً ، انزيم الريبونيوكليس ribonuclease، الذي يثبط من قبل المركب أيودواسيتات iodoacetate.وقد وجد بأن هذا المثبط يتفاعل مع وحدتي الهيستيدين في الانزيم ليكون مشتقات N- كربوكسي مثيل N-carboxymethyl.ان وحدتي الهيستيدين ضرورية لفعالية الانزيم. وقد تبين بأنها تحل في المواقع 12 والموقع 119 في سلسلة متعدد الببتيد للريبونيوكليس المحتوية على 124 وحدة من الاحماض الامينية.ان انزيم الريبونيوكليس يعمل على تحفيز التحلل المائي للاواصر 3َ- 5َ فوسفات ثنائي الاستر في ال RNA. وبناءاً على ماتقدم يمكن تفسير آلية عمل هذا الانزيم كما في شكل (6-10).



(6-10) فرضية آلية عمل الانزيم ريبونيوكليس المحفز لتميؤ الآصرة 3-5 فوسفو ثنائي الاستر في ال RNA ان مجموعتي الايميدازول المبينتين. يعتقد انها تعودا لوحدتي الهيستيدين الموجودتين في المواقع 12 و 119 في سلسلة متعدد الببتيد للانزيم المذكور.

الطريقة الثالثة لفهم آلية عمل الانزيم هي دراسة تراكيب المعقدات (انزيم – المادة الاساس)، مثلاً، انزيم الكيموتريبسين Chymotrypsin. ويحفز التحلل المائي لبعض استرات حامض الخليك، وتكون مجموعة الاسيتيل للمادة الاساس متحدة بصورة [illegible]

الحقيقة، اضافة الى التوصل بان وحدات الهستيدين [illegible] ايضا ضرورية [illegible] أدت الى نظرية آلية التحفيز بوساطة الكيموتريبسين شكل (6-11).

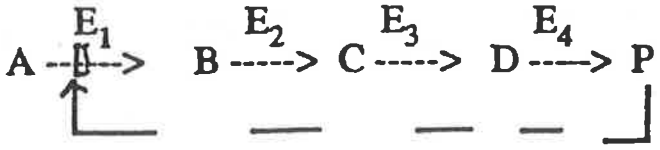
الانزيمات الاللوستيرية (المنظمة) Allosteric enzymes

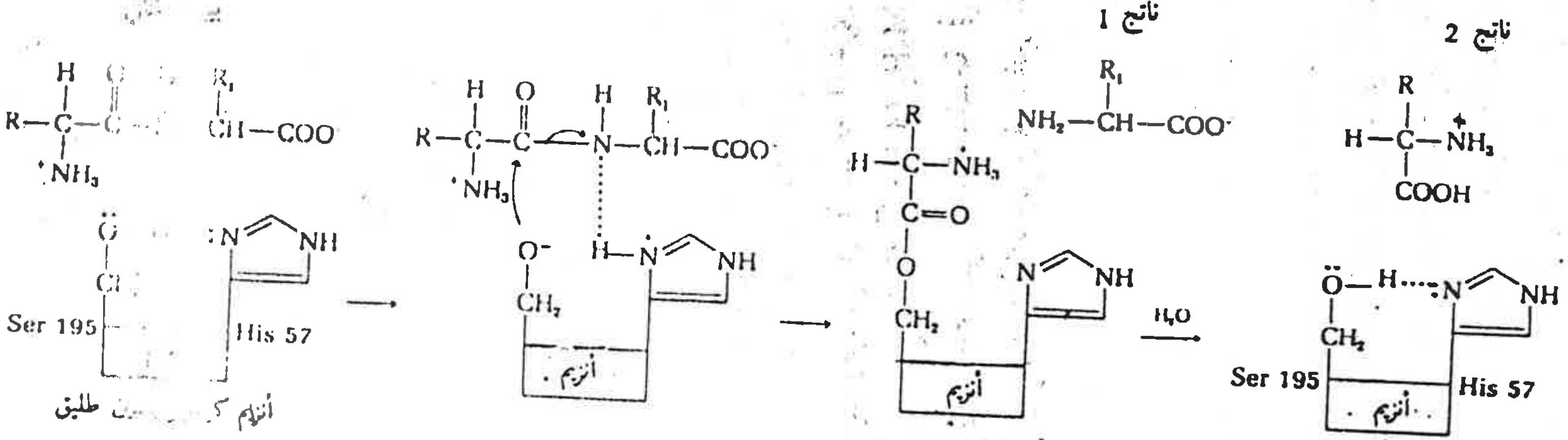
تعني الكلمة «اللوستيرية» allosteric الموقع (الطرف) الاخر "another site" وللانزيمات الالوستيرية طرف او موقع آخر منظم، يختلف عن الطرف المحفز الموقع الفعّال، ترتبط فيه المواد المؤثرة او المعدلة effector or modulator (modifiers). وتتكون عادة آصرة تساهمية بين المادة المؤثرة والانزيم. ويبدو أن الانزيمات الالوستيرية تتألف من عدة وحدات لسلاسل ببتيدية وتعمل هذه الانزيمات على تنظيم سرعة المسارات الأيضية، حسب حاجة الخلية، وبهذا تسمى الانزيمات الالوستيرية المنظمة.

ان المؤثر او المحفز الموجب Positive or stimulatory effector، هو مركب يعزز اقتران المادة الاساس بالانزيم. بينما المؤثر السالب negative effector مركب يقلل من اقتران المادة الاساس بالأنزيم. حيث ان اقتران المؤثرات بالطرف (الموقع) المنظم يغير التركيب الرباعي للانزيم الالوستيري، وبالتالي يغير خواص الموقع الفعّال للاقتران بالمادة الاساس.

ليس ضرورياً تشابه المؤثرات الالوستيرية في تركيبها للمادة الاساس كما هو الحال لهذه الضرورة في المثبطات التنافسية.

تعمل نظم الانزيمات المتعددة multienzyme system بصورة متسلسلة حيث يكون فيها ناتج التفاعل للانزيم الاول مادة اساس للانزيم الذي يليه وهكذا. وغالباً ماتقع الانزيمات الالوستيرية (المنظمة) في الخطوة الاولى او في بداية المسار الطويل للعملية الايضية. حيث يعمل الناتج النهائي للمسار مؤثراً سالباً للانزيم المنظم. وهذا اما يدعى بتثبيط الناتج النهائي end product inhibition او بتثبيط التغذية المرتدة feedback inhibition.





مجموعة الهيدروكسيل للسيرين والايميدازول للهستدين 57، مرتبطة بآصرة هيدروجينية.

انتقال البروتون بسرعة من السيرين في الموقع 195 الى ذرة النتروجين للايميدازول في الموقع 57 وتكوين آصرة هيدروجينية بين المادة الاساس والايميدازول

ازاحة مجموعة أمينو– أسايل من الببتيد الثاني – المجموعة المغادرة هي الحامض الأميني من النهاية -C للمادة الأساس

جزيئة ماء. حلت محل مجموعة الأسيل في الموقع 195 للسيرين، وبهذا تحرر الأنزيم ثانية

شكل (6–11) فرضية مقترحة لآلية عمل انزيم الكيموتربسين

والانزيمات المنظمة هذه ، تقع تحت تأثير الهورمونات بطريقة غير مباشرة (انظر الفصل 15).

ان الانزيمات الالوستيرية لاتتبع الفرضية الحركية لميكايلس – مينتين. فعند رسم [V]

الانزيمات غير الالوستيريه المبين في شكل (... ب) ويكون ... [illegible]

(Sigmoidal).

الانزيمات المتماثلة الأصل — Isoenzymes

ان الانزيمات التي تحتوي على عدد من الوحدات لسلاسل ببتيدية من نوعين او اكثر والتي يمكن ان تتواجد بأكثر من شكل جزيئي واحد ، تدعى بالانزيمات المتماثلة isozymes مثلاً ، انزيم اللاكتيت ديهايدروجينيس Lactate dehydrogenase موجود في الانسجة الحيوانية بخمسة اشكال. وقد تكونت هذه الانزيمات الخمس المتماثلة الاصل من اتحاد نوعين مختلفين من سلاسل متعدد الببتيد. سلاسل M تعود للعضلات muscles وسلاسل H تعود للقلب heart. حيث ان الانزيم السائد في العضلات يحتوي على اربعة سلاسل M متطابقة (M_4) والانزيم السائد في القلب يحتوي على اربعة سلاسل H متطابقة (H_4). وانزيمات اللاكتيت ديهايدروجينيس في الأنسجة الاخرى تكون هجينية وتتكون من خليط من سلاسل M وسلاسل H. كالآتي: MH_3, M_2H_2, M_3H. تختلف الانزيمات المتماثلة الاصل للاكتيت ديهايدروجينيس بصورة واضحة في سرعتها القصوى V_{max} وفي ثابت ميكايلس (K_m) والانزيمات المتماثلة ضرورية لتنظيم العمليات الحياتية المختلفة.

الفحص الكمي لفعالية الانزيم — Enzyme assays

يمكن قياس كمية ، الانزيم في محلول او مستخلص نسيجي معين ، بواسطة الفحص الكمي نسبة الى التأثير المحفز الذي ينتجه ذلك الانزيم. ولذا فمن الضروري معرفة المعادلة الكلية للتفاعل المحفز لذلك الانزيم وكذلك معرفة طريقة تحليلية بسيطة لتعيين اختفاء المادة الاساس أو ظهور نواتج التفاعل. وتفحص الانزيمات عادة عند درجة الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة المثلين ، وكذلك عند التركيز الاشباعي بالمادة الاساس.

تعرف وحدة قياس فعالية الانزيم (وحدة انزيم U او Enzyme unit, E.U.) عالمياً: بكمية الانزيم التي تسبب تحوير مايكرومول واحد micromole (10^{-6} مول) من المادة الاساس خلال دقيقة واحدة عند درجة 25 مْ وتحت ظروف مثالية للقياس. وقد تستعمل [illegible]

[illegible]

هي:

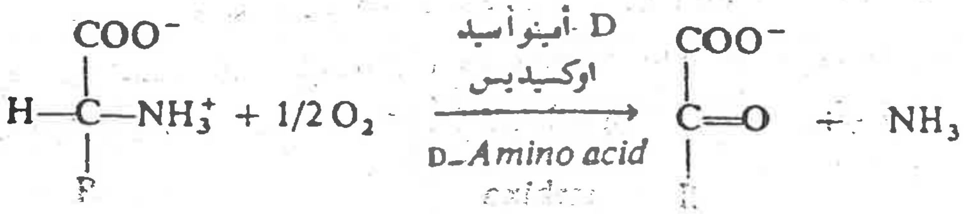
1 كاتال = 6×10^{7} U

الفعالية النوعية للانزيم specific activity هي عدد وحدات الانزيم لكل ملغرام من البروتين. ويستفاد منها لقياس نقاوة الانزيم، وتزداد خلال تنقية الانزيم وتصل الى درجتها القصوى الثابتة عندما يصبح الانزيم في حالة نقاوة تامة. اما عدد التحول turnover number لاي انزيم فهو يشير الى عدد الجزيئات المتحررة من التفاعل لكل وحدة زمن بوساطة جزيئة واحدة من الانزيم، عندما يكون الانزيم هو العامل المحدد للسرعة. مثلاً عدد التحول لانزيم كاربونيك انهايدريس Carbonic anhydrase هو 136000000 جزيئة / دقيقة وهو اعلى عدد تحول معروف.

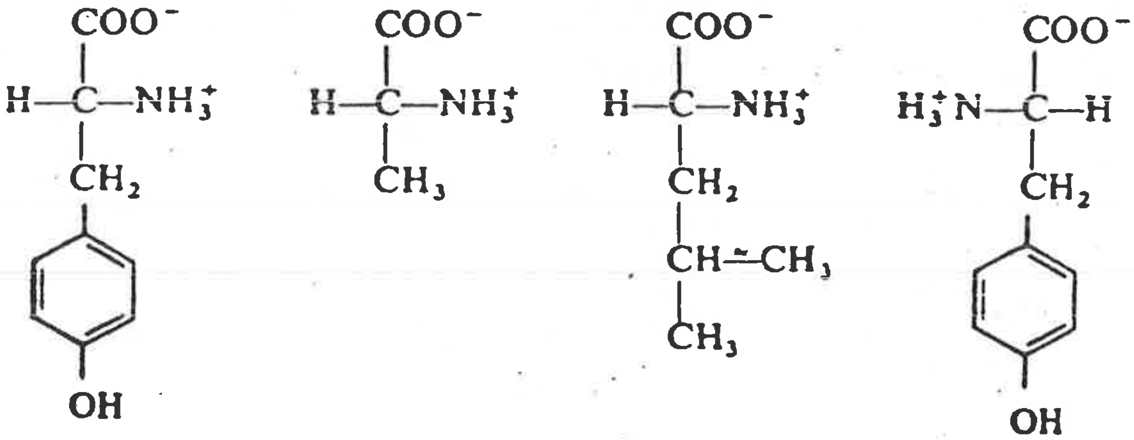
تخصص الانزيم Enzyme Specificity

من المعروف ان الانزيمات محفزات بروتينية متخصصة. غير ان درجة التخصص التي تبديها الانزيمات مع مواد الاساس تكون متفاوتة. حيث ان هناك انزيمات تكون فعالة (متخصصة) مع مادة اساس واحدة او عدد قليل (محدود) من مواد اساس معينة. بينما هناك انزيمات تتفاعل مع مدى واسع لمواد اساس ذي طابع عام واحد. وخير مثال في الصدد، هو تخصص نظام الانزيم D — حامض أميني — اوكسيدكيس L amino acid oxidase المبين في شكل (6 — 12). تعتمد طبيعة التخصص هذا على عدد من العوامل المشتركة في ارتباط (اقتران) المادة الاساس بالانزيم. وهذه العوامل تتضمن تجاذب المجموعات المشحونة للمادة الاساس مع تلك للبروتين. تداخل المجموعات الكارهة للماء مع تلك في البروتين، والتآصر الهيدروجيني مع البروتين. او التداخل مع المجموعات المترابطة للبروتين.

ان تخصص الانزيم بالتفاعل غالباً مايمتد الى قابلية الانزيم في التمييز بين مجموعتين تبدوان متشابهتين. لمركب (مادة اساس) له ذرة كاربون ميزو (انظر فصل 3).



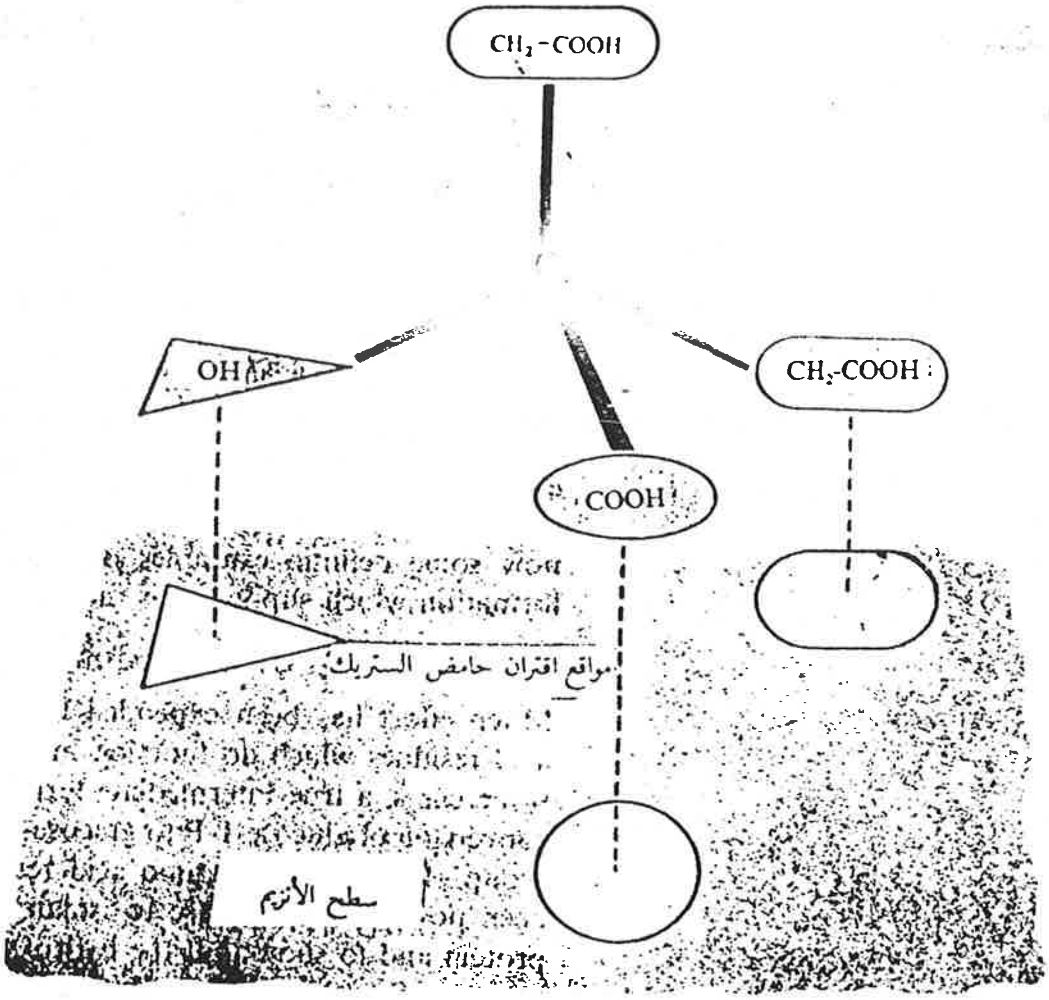
سرعات التفاعل مع مواد الأساس المختلفة



D-Tyr = 100   D-Ala = 34   D-Leu = 7.5   L-Tyr = 0

شكل (12-6) العمل التخصصي لانزيم D– حامض اميني اوكسيديس. بالامكان متابعة التفاعل الانزيمي بقياس سرعة استهلاك الـ O_2. عموماً فان هذا الانزيم متخصص للاحماض الامينية –D المتعادلة. وان طبيعة المجموعة غير المستقطبة للمادة الاساس لها تأثير على سرعة التفاعل الانزيمي هذا.

ان هذا التخصص قد تجلى اول الامر لدى الدراسات المبكرة التي استعمل فيها المركب المتماثل حامض السيتريك المرقم اشعاعياً radioactively labelled. وقد دلت هذه الدراسات بان عملية تحول حامض السيتريك الى حامض ايسوسيتريك قد تمت بوساطة آلية انزيمية بشكل غير متماثل (انظر الفصل 10). ولقد استنتج العالم اوكستون Ogston ان المجموعتين اللتين تبدوان متشابهتين والموجودتين في حامض الستريك ($-CH_2COOH$) تكونا قابلتين للتمييز فيما لو كان الافتراض بان المادة الاساس تتصل بالانزيم عند نقاط ثلاث مختلفة three–point attachment وكما هو مبين في شكل (13–6).



شكل (13-6) آلية الاتصال بثلاث نقاط three–point attachment لجزيء متماثل مع سطح انزيم سرعات التفاعل مع مواد الاساس المختلفة

استعمالات الانزيمات Uses of enzymes

تستخلص الانزيمات من الانسجة الحيوانية او النباتية ، ثم تنقى للاغراض التالية :

1– لدراسة المسارات الايضية metabolic pathway وتنظيم التفاعلات الجارية في ذلك المسار.

2– دراسة تركيب وآلية عمل الانزيمات mechanism of action.

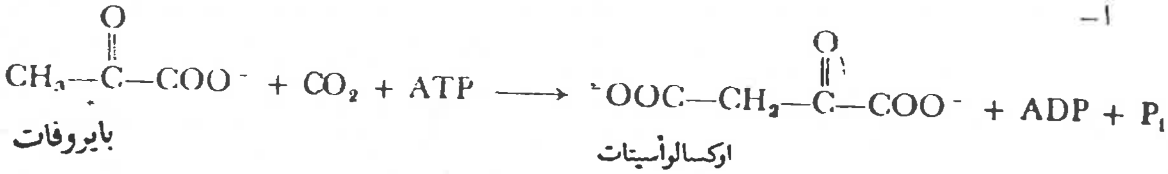
3– تستخدم في الصناعة كعوامل مساعدة بايولوجية.

4– تستخدم دراسة فعالية الانزيمات الموجودة في مصل الدم سريرياً كمؤشرات لمعرفة حدوث حالة مرضية معينة.

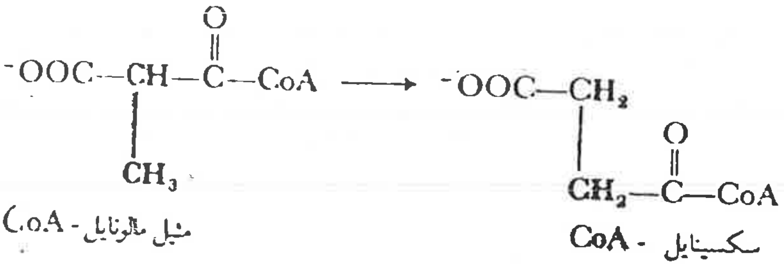
تمرينات الفصل السادس

اــ سمّ الانزيمات المحفزة للتفاعلات الآتية :-

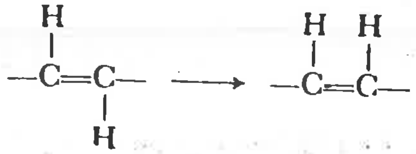
أـ



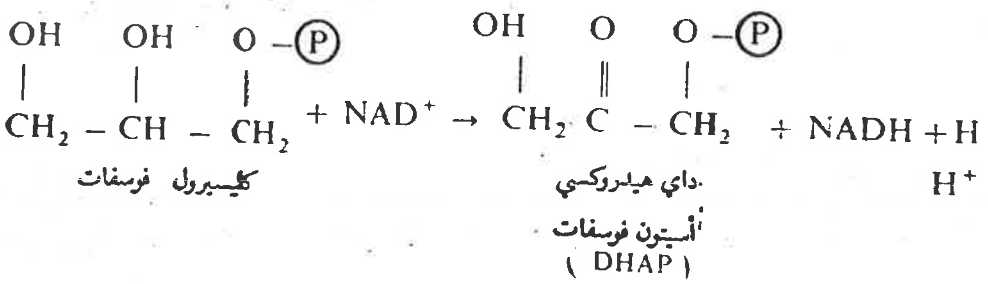
ب ـ



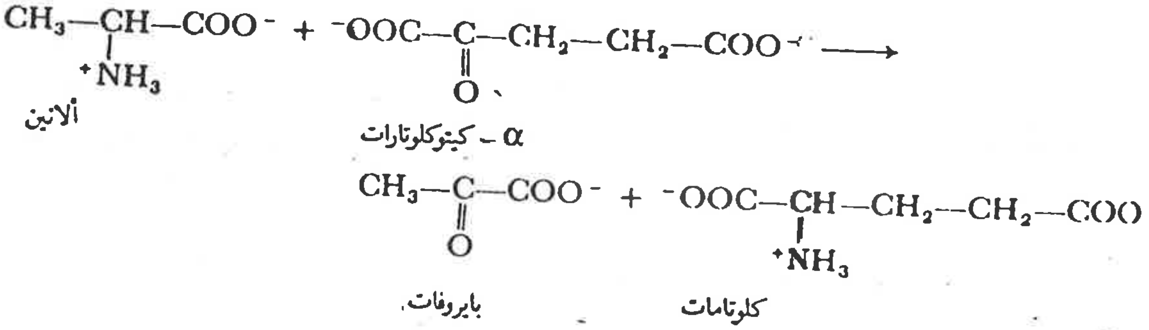
جـ ـ

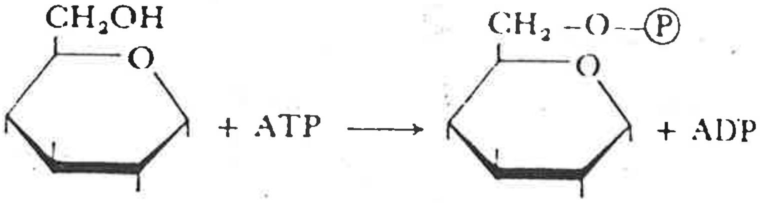


د ـ



هـ ـ





2– ارسم التركيب الكيمياوي لنواتج التفاعلات الآتية. ثم صف التفاعل:

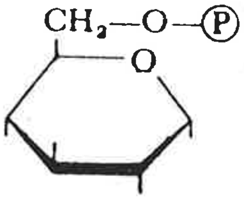
أ– $^{-}OOC—CH=CH—COO^{-} + H_2O \xrightarrow[\text{فيومارات هايدراتيس}]{\text{fumarate hydratase}} \ldots$

فيومارات

ب– $CH_3—\underset{}{\overset{OH}{|}}{CH}—COO^{-} + NAD^{+} \xrightarrow[\text{لاكتات ديهايدروجينيس (LDH)}]{\text{lactate dehydrogenase (LDH)}} NADH + H^{+} + \ldots$

لاكتات

جـ–



$+ H_2O \xrightarrow[\text{كلوكوز -6- فوسفاتيس}]{\text{glucose-6-phosphatase}} \ldots$

كلوكوز –6– فوسفات

3– استعمل معادلة ميكايلس– مينتين لاكمال الجدول الآتي:

$\frac{[S]_0}{K_m}$	$\frac{V}{V_{max}} \times 100$
$\frac{1}{2}$	33
1	...
2	...
3	...
10	...

4– اذا كانت قيمة K_m هيكسوكينيس hexokinase بالنسبة للكلوكوز هي 0.15mM. بينما تكون لنفس الانزيم بالنسبة للفركتوز هي 1.5mM. أجب عما يأتي مفترضاً ان V_{max} قيمتها واحدة لكلتي مادتي الاساس:

أ- اكتب التفاعلات للكلوكوز والفركتوز. المحفزة بوساطة هيكسوكينيس.

ب- احسب نسبة مئوية من V_{max} لكل مادة اساس. عندما تكون $[S]_0 = 0.15mM$ $1.5\ M$ و $15mM$.

الفصل الثامن

النيوكليوتيدات والأحماض النووية

Nucleotides and Nucleic acids

النيوكليوتيدات جزيئات خلوية مهمة ذات وزن جزيئي قليل، تشارك في عمليات حياتية شتى. ومن النيوكليوتيدات المعروفة جيداً هي نيوكليوتيدات بايريميدين وبيورين pyrimidine and purine nucleotides. تعمل النيوكليوتيدات وحدات تركيبية للأحماض النووية ريبونيوكليك RNA وديأوكسي (لا أوكسجيني) ريبونيوكليك DNA، وهي تشارك في آلية نقل المعلومات الوراثية كما تعمل هذه المركبات أيضاً في الأنظمة الحياتية عامة مصدراً غنياً بالطاقة، وغالباً بالشكل ادينوسين ثلاثي (تراي) فوسفات ATP وكذلك تعمل كمؤشرات تنظيمية (رسلاً كيمياوية ثانية) لعمليات أيضية مختلفة مثل، النيوكليوتيد أدينوسين أحادي (مونو) فوسفات الحلقي cAMP وكوانوسين أحادي (مونو) فوسفات الحلقي cGMP (انظر فصل 15). وتعمل النيوكليوتيدات مرافقات أنزيمية مثل NAD^+ و$NADP^+$ وFAD (فصل 7) وكذلك تشارك في العمل كمركبات وسطية في التكوين الحياتي للكاربوهيدرات (مثل UTP) والدهون المعقدة (الفصل 12.11).

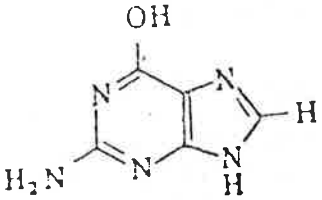
القواعد بايريميدين وبيورين ومشتقاتها **Pyrimidine and Purine bases**

ان الحلقات غير المتجانسة التي تؤلف نواة كل من نيوكليوتيدات البايريميدين والبيورين. تملك التركيب التالي، شكل (8-1 – أ).

ان قواعد البايريميدين الرئيسة الموجودة في الأحماض النووية هي، سايتوسين cytosine ويوراسيل uracil وثايمين thymine، والتي لها التركيب التالي شكل 8-1 – أ):

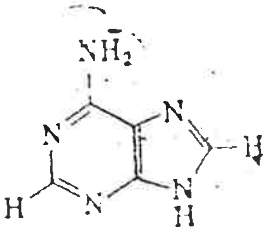
ان المتناظر (المتماثل) بالشكل كيتو أو لاكتام (NHC = O) للسايتوسين يكون غالباً أكثر من الشكل اينول أو لاكتيم lactim (N = COH) عند الرقم الهيدروجيني المتعادل (الرقم الهيدروجيني [illegible])

أما القواعد البيورينية الرئيسة في الأحماض النووية فهي الأدينين والكوانين adenine and guanine . شكل (8-1 – أ) .



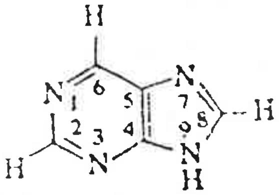
Guanine

كوانين (2– أمينو– 6– أوكسي بيورين)



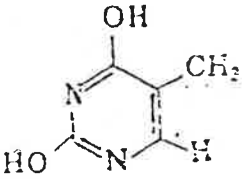
Adenine

أدينين (6 – أمينو بيورين)



Purine

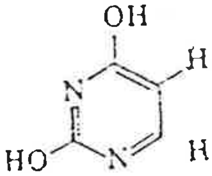
بيورين (المركب الأصل)



Thymine

ثايمين

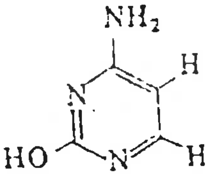
(5– مثيل يوراسيل)



Uracil

يوراسيل

(2 ، 4 داي اوكسي بايرميدين)

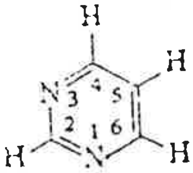


Cytosine

سايتوسين

(2– أوكسي – 4–

أمينو بايرميدين)

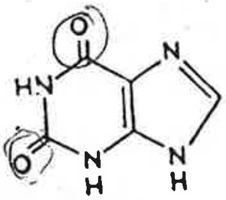


Pyrimidine

بايرميدين (المركب الأصل)

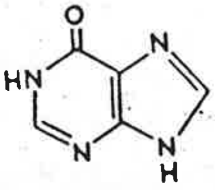
شكل (8-1 – أ) القواعد النتروجينية الموجودة في النيوكليوتيدات والأحماض النووية

وهناك اثنان من قواعد البيورين الاخرى هما زانثين xanthine وهايبوزانثين hypoxnthine الموجودان كمركبات وسطية ناتجة من العمليات الايضية للادينين والزانثين (الفصل 14) .



زانثين

2، 6- ثنائي (داي) اوكسي بيورين

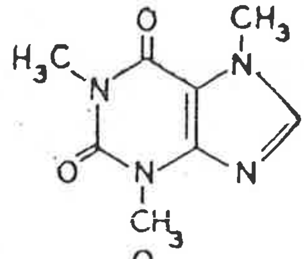


هايبوزانثين

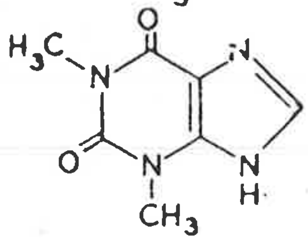
(6- اوكسي بيورين)

وفي النبات، توجد مجموعة من قواعد البيورين التي تحتوي على معوضات مثيل . ويملك العديد من هذه القواعد خصائص عقاقيرية مثلاً ، القهوة تحتوي على القاعدة البيورينية

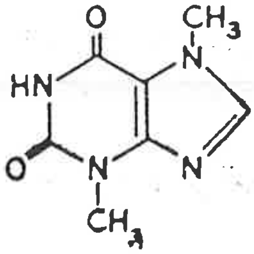
كافين caffine (7.3.1-ثلاثي (تراي) مثيل زانثين 1, 3, 7 trimethylxanthine) وفي الشاي يوجد الثيوفايلين theophylline (3.1-ثنائي مثيل زانثين ، 1.3 dimethylxanth-ine) . كما يحتوي الكاكاو Cocoa على الثريوبرومين threobromine (7.3 – ثنائي مثيل زانثين 3.7. dimethylxanthine) . وهذه جميعاً عقاقير منبهة (8 – 1 – ب)



كافين (1,3,7- trimthylxanthine)



ثيوفايلين (1,3- dimethylxanthine)



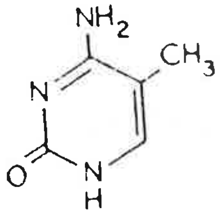
ثريوبرومين (3,7- dimethylxanthine)

شكل (8 – 1 – ب) مركبات بيورين معوضة موجودة في الغذاء

وهناك قواعد بيورين وبايريميدين اخرى توجد بنسبة ضئيلة في الاحماض النووية للبكتريا والرواشح وكذلك توجد في الحامض النووي الريبوزي الناقل transfer RNA لكل من الخلايا البدائية والحقيقية النواة ، وقد وجدت اخيراً في الحامض النووي الريبوزي الرسول messenger RNA لخلايا الحيوانات الثدية (شكل 8 – 2) .

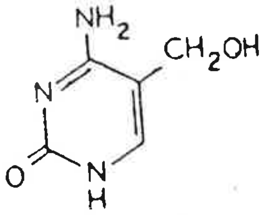
مركبات النيوكليوسيد والنيوكليوتيد ومشتقاتها Nucleosides and Nucleotides

ان قواعد البيورين والبايريميدين توجد بكثرة في الطبيعة بشكل مركبات نيوكليوسيد



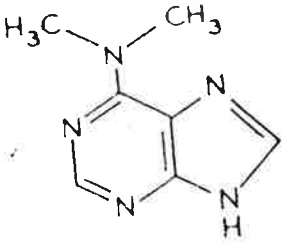
5-Methylcytosine

5-مثيل سايتوسين

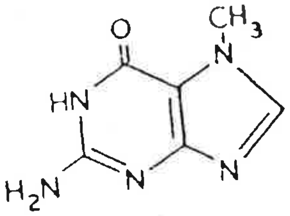


5-Hydroxymethylcytosine

هيدروكسي مثيل سايتوسين



N^6,N^6 - ثنائي (داي) مثيل ادينين



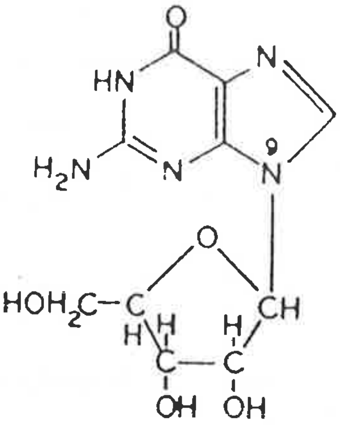
7- مثيل كوانين

شكل (8-2) قواعد بيورين وبايريميدين غير شائعة وموجودة في الطبيعة

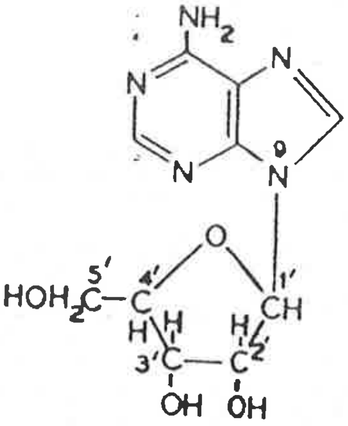
النيوكليوسيد

يتألف النيوكليوسيد من قاعدة بيورين او بايريميدين متصلة بوحدة سكر (قاعدة نتروجينية + سكر) ويكون السكر غالباً β – D – ريبوز او 2 – دي أوكسي – β – D – ريبوز.وتكون الآصرة الرابطة بينها متصلة بذرة النتروجين للقاعدة (الموقع 1 في البايريميدين او الموقع 9 في البيورين) وذرة الكاربون 1 للسكر. وتدعى هذه بالآصرة N- الكلايكوسيدية N-glycosidic bond وتسمى النيوكليوسيدات الاربع الرئيسة كما يأتي :

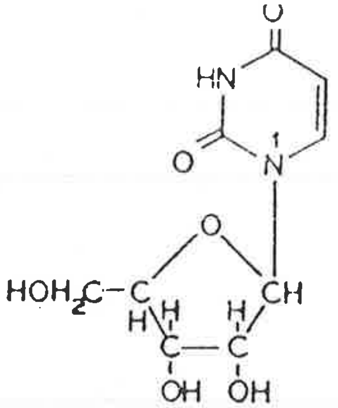
ادينوسين adenosine وكوانوسين guanosine وسايتيدين Cytidine ويوريدين uridine ، اما دي اوكسي (لا اوكسجيني) ريبونيوكليوسيدات الاربع الرئيسة فتسمى 2 – دي اوكسي ادينوسين deoxyadenosine –'2 و '2 دي اوكسي كوانوسين deoxyguanosine و '2 – دي اوكسي سايتيدين deoxycytidine –'2 و –'2 دي اوكسي ثايميدين deoxythmidine –'2 شكل (8-3).



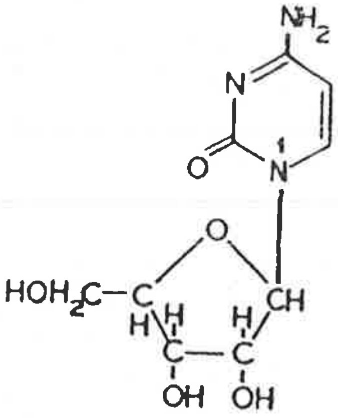
كوانوسين



اديونسين



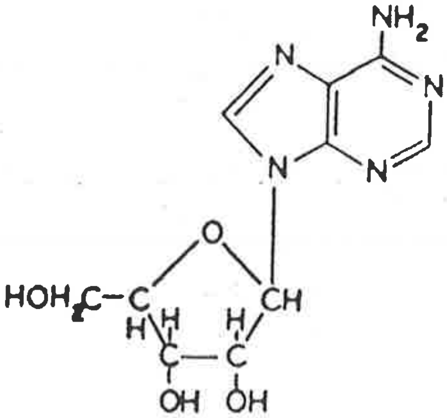
يوريدين



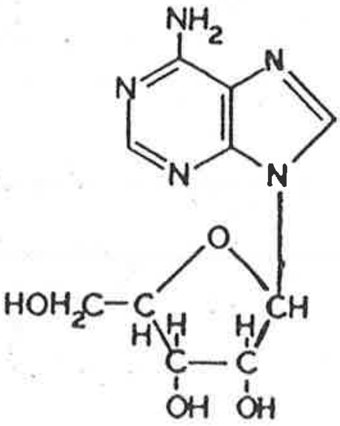
سايتيدين

شكل (8–3) التركيب الكيمياوي لريبونيوكليوسيدات

وتكون النيوكليوسيدات لها التركيب الفضائي انتي anti (معاكس) بشكل غالب (شكل 8–4).



تركيب فضائي متعاكس Anti



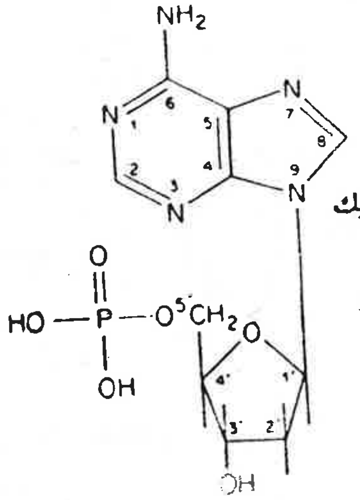
تركيب فضائي متماثل Syn

النيوكليوتيد

النيوكليوتيد هو نيوكليوسيد مفسفر (اي ان النيوكليوتيد يتألف من نيوكليوسيد + حامض فوسفوريك) ، حيث تكون فيه مجموعة OH او اكثر للسكر ريبوز او دي اوكسي ريبوز متأسترة مع حامض الفوسفوريك وفي النيوكليوتيدات تستعمل الارقام 1̀.2̀ ..... للاشارة الى ذرات السكر وذلك تمييزاً عن ذرات القاعدة النتروجينية الموجودة في الجزيء نفسه. ويرتبط حامض الفوسفوريك بآصرة استرية مع الريبوز في موقع الـ HO-2̀ أو 3̀ أو 5̀- كما يرتبط مع 2̀ – دي أوكسي ريبوز في موقع الـ OH-3̀ او – 5̀.وتوجد النيوكليوتيدات المفسفرة مع OH السكر عند الموقع 5 . منتشرة في الطبيعة اكثر من غيرها .

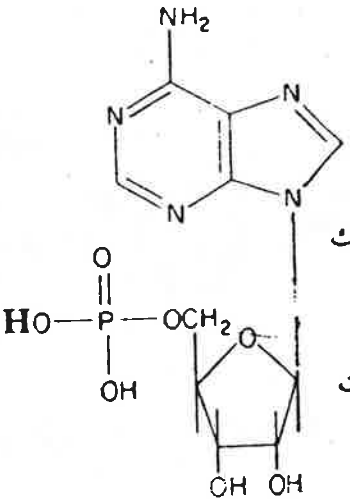
وهكذا فان الريبونيوكليوتيد، ادينوسين مونو (احادي) فوسفات (AMP) او حامض ادينايليك adenylic acid مثلاً . يتكون من ادينين + ريبوز + فوسفات، ودي اوكسي ريبونيوكليوتيد ، 2– دي أوكسي ادينوسين مونو فوسفات (d AMP) او 2̀ – دي اوكسي ادينايليك deoxadenylic acid –2̀. يتألف من ادينين +2̀-دي اوكسي ريبوز + فوسفات (شكل 8 – 5) . ان جميع النيوكليوتيدات المحتوية على فوسفات هي احماض ، وذلك بسبب قابلية التأين لذرات الهيدروجين لمجموعة الفوسفات الموجودة . ويوضح الشكل (8 – 5) نيوكليوتيدات البيورين او البايريميدين التي توجد غالباً في الاحماض النووية DNA و RNA للخلايا :

deoxyribonucleotide
نيوكليوتيدات دي اوكسي ريبوز

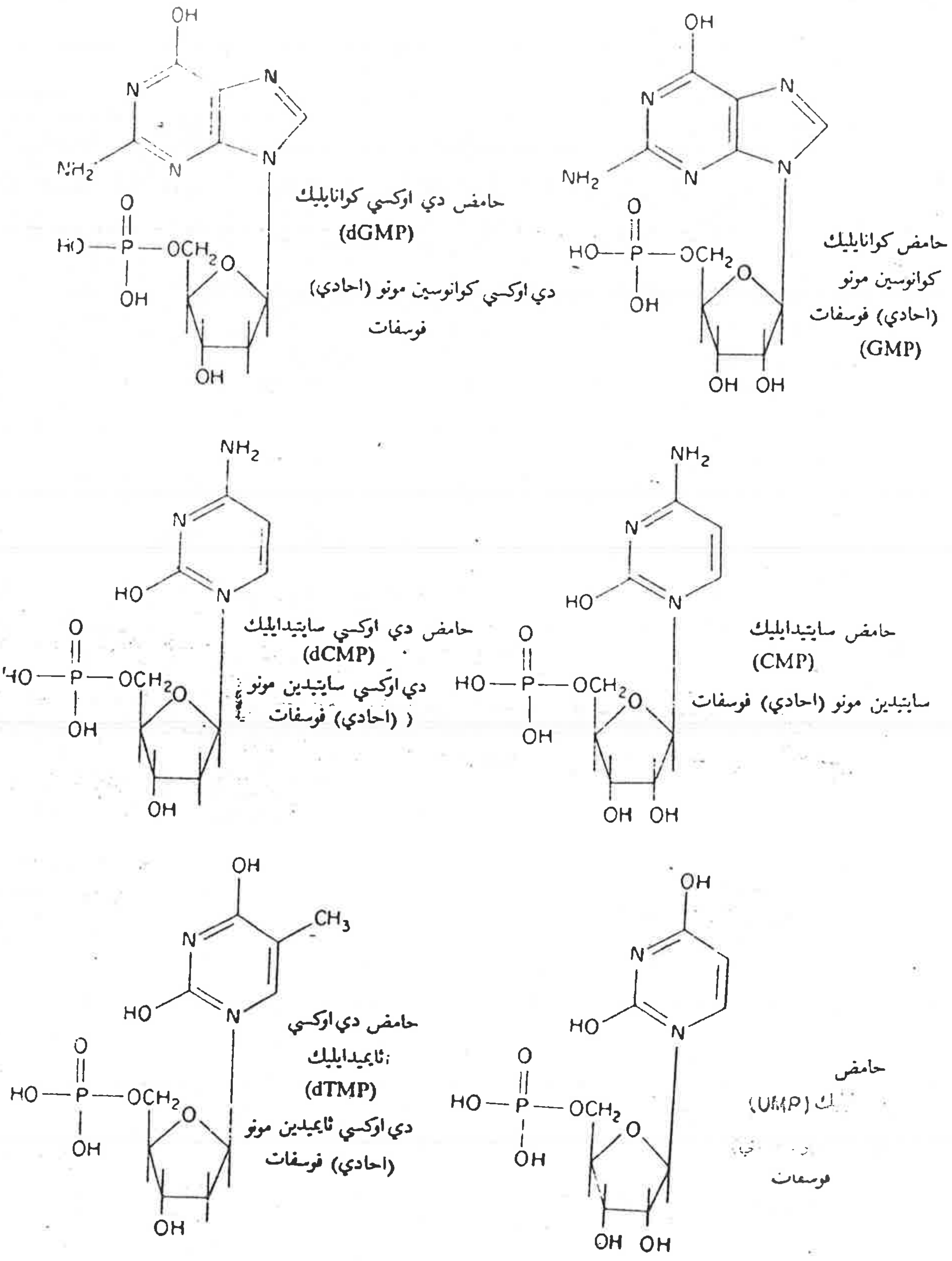


حامض دي اوكسي أديناليك
(dAMP)
دي اوكسي ادينوسين مونو (احادي) فوسفات

Ribonucleotide
نيوكليوتيدات ريبوز



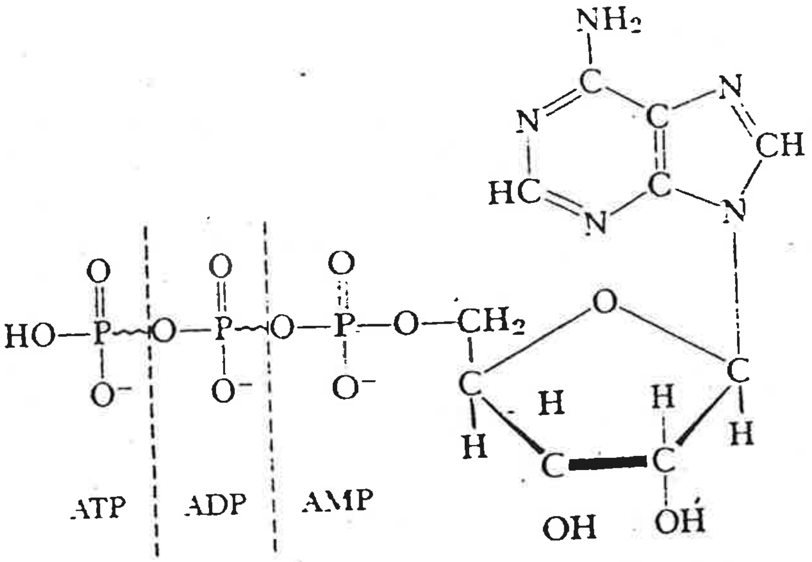
حامض ادينايليك
(AMP)
ادينوسين مونو (احادي) فوسفات



شكل (8−5) نيوكليوتيدات اليورين والبايرميدين الرئيسية التي توجد في الاحماض النووية RNA. DNA

ويعمل كل من حامض الأدينايليك وحامض اليوريدايليك مركبات مهمة في العمليات الأيضية للكاربوهيدرات في العضلة. كما يوجد العديد من النيوكليوتيدات ومشتقاتها بصورة حرة في الانسجة وهي تشارك في العمليات الايضية المختلفة.

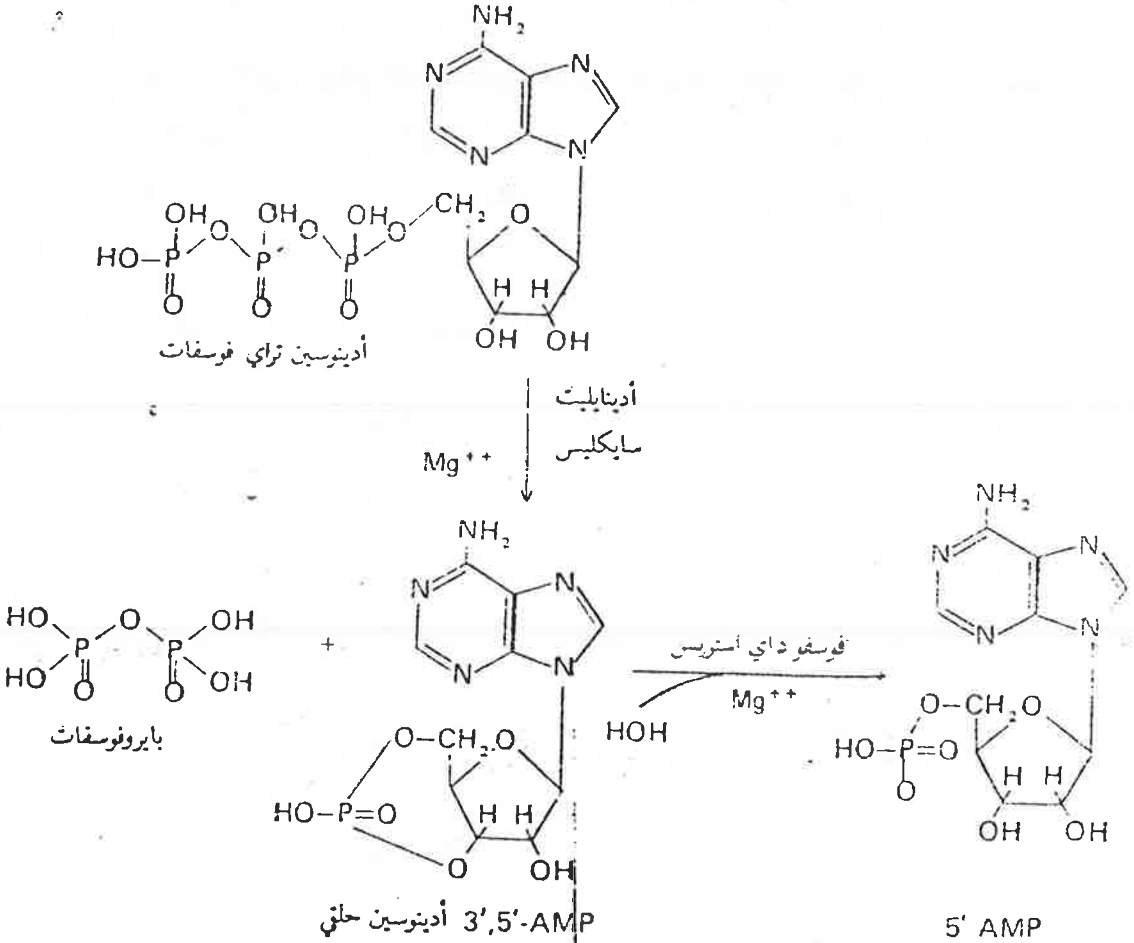
وهناك نيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات وثلاثية الفوسفات تدخل في مختلف العمليات الايضية، مثل، ادينوسين داي (ثنائي) فوسفات adenosine diphosphate ADP وادينوسين تراي (ثلاثي) فوسفات adenosine triphosphate (شكل 8–6). وتعد مثل هذه المركبات مهمة جداً حيث انها تشارك في عمليات الفسفرة التأكسدية (الفصل 10) ويعتبر ال ATP خاصة مصدراً وناقلاً للطاقة حيث يستخدم تقريباً في جميع تفاعلات الخلية التي تحتاج الى طاقة. وعند تحلل الآصرة الثالثة في جزيئ ال ATP ينتج ال ADP و 7000 سعرة من الطاقة الكامنة. ويوجد ال ATP في خلايا الثدييات بتركيز 1mM تقريباً.



شكل (8–6) تركيب ادينوسين تراي (ثلاثي) فوسفات ATP عند 7.0 pH: ~ تشير الى اصرة ذو طاقة عالية

ومن مشتقات النيوكليوتيدات المهمة هو المركب 3–5 ادينوسين مونوفوسفات الحلقي، adenosine -5′-3′ cyclic monophosphate- او AMP الحلقي (cAMP) (شكل 8-7). ويوجد ال AMP الحلقي في جميع خلايا الحيوانات تقريباً (انظر الفصل 15). ومن بين الوظائف المتعددة التي يقوم بها ال AMP الحلقي في الانسان والحيوان، دوره كمرسل او مخبر كيمياوي يتحكم بسرعة التفاعلات الانزيمية داخل الخلايا لعدد كبير من

الانسجة . ولقد لوحظ بأن عدداً كبيراً من الهورمونات تتكون او تتحرر كنتيجة لتحفيز تخليق هذا المركب الحيوي . ويتكون ال AMP الحلقي من ال ATP وبوجود الانزيم اديناليت سايكليس adenylate cyclase (شكل 8 — 7) . ويتحطم ال AMP الحلقي في الانسجة بوساطة تحوله الى AMP وذلك بوجودانزيم cAMP فوسفوداي استريس cAMP phosphodiesterase. ويبلغ تركيز ال cAMP في الخلية 1μM تقريباً .



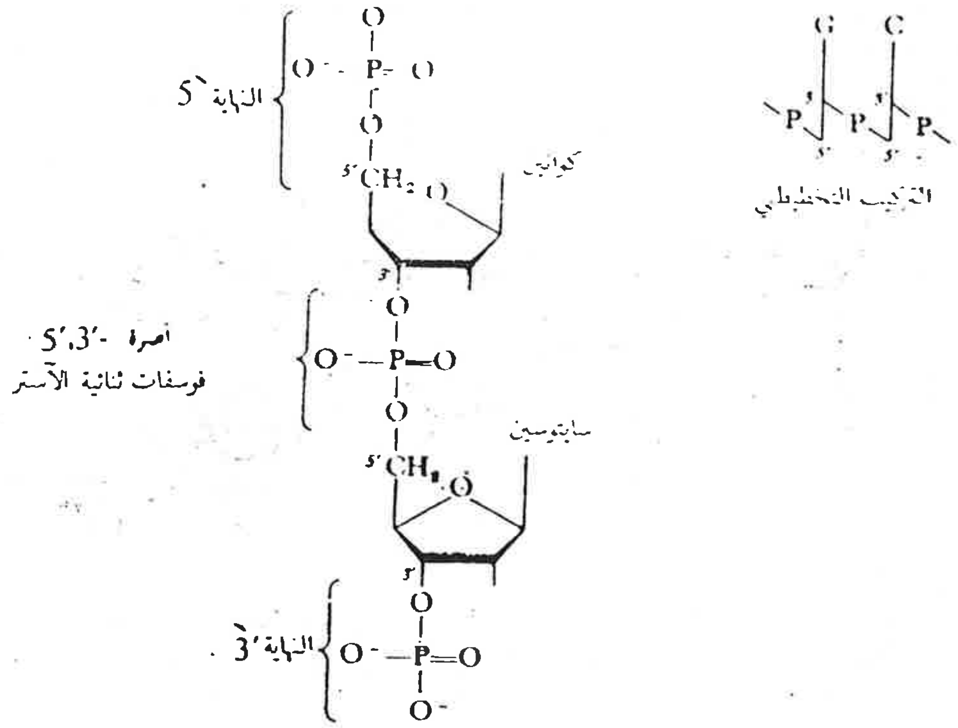
شكل (8 — 7) التفاعلات المشاركة في تكوين وهدم ال AMP الحلقي

وهناك نيوكليوتيدات حلقية اخرى مشابهة في وظائفها لل cAMP. مثل ، 3'-5'— كوانوسين مونو (احادي) فوسفات او GMP الحلقي cyclic GMP (انظر الفصل 15) .

وتوجد في الخلية نيوكليوتيدات اخرى تلعب دوراً مهماً في العمليات الايضية المختلفة ، حيث تعمل مرافقات انزيمية coenzymes مثل : فلافين مونو نيوكليوتيد **flavin** monomucleotide (FMN) وفلافين ادنين داي نيوكليوتيد flavin adenine dinucleotide (FAD) ونيكوتين — اميد ادنين داي نيوكليوتيد nicotinamide aden-

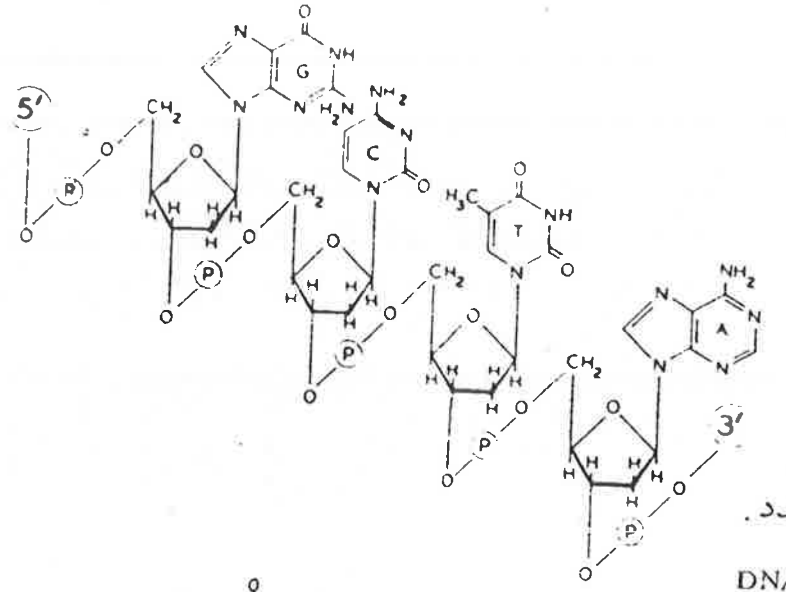
Nucleic acids الاحماض النووية

الاحماض النووية تمثل النوع الرابع للجزيئات الحياتية الكبيرة الموجودة في الخلية الحية . والاحماض النووية تتكون من وحدات متكررة من النيوكليوتيدات (شكل 8 – 5) ، المرتبطة مع بعض بوساطة الاواصر 3´-5´ فوسفات ثنائية الاستر 3´ – 5´ phosphodiester linkages . تمتد الآصرة 3´ – 5´ فوسفات ثنائية الاستر بين الـ 3´ – OH للسكر في جزيء النيوكليوتيد الواحد وبين مجموعة الفوسفات في الـ 5´ – OH للسكر في جزيء النيوكليوتيد الذي يليه (شكل 8 – 8) . وهكذا تتكون الاحماض النووية من عمود فقري من وحدات السكر والفوسفات المتعاقبة ، تبرز عنه القواعد النتروجينية .

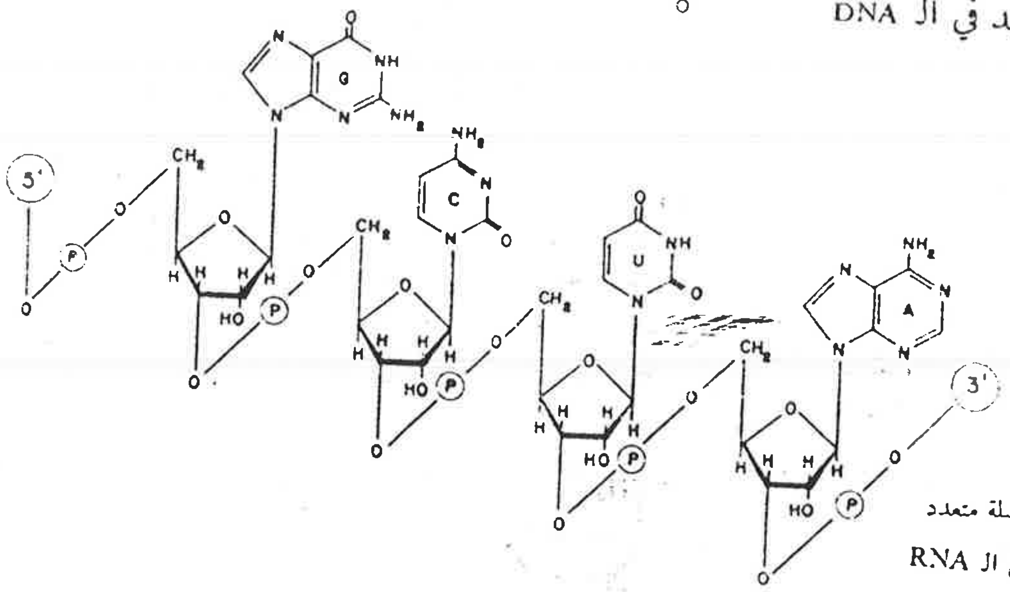


شكل (8 – 8) تركيب نيوكليوتيد ثنائي تظهر فيه الاصرة 3´-5´ فوسفات ثنائية الاستر

وهناك نوعان من الاحماض النووية هما الحامض النووي دي اوكسي ريبوزي (لااوكسجيني) deoxyribonucleic acid (DNA) والحامض الريبوزي (الاوكسجيني) ribonucleic acid (RNA) (شكل 8 – 9) .



مقطع لسلسلة متعدد.
النيوكليوتيد في ال DNA



مقطع لسلسلة متعدد
النيوكليوتيد في ال RNA

شكل (8–9) مقطع لتركيب سلسلة نيوكليوتيدية في ال DNA ومقطع آخر لتركيب سلسلة نيوكليوتيدية في ال RNA

الحامض النووي الدي اوكسي (دي اوكسي ريبونيوكليك)
Deoxyribo nucleic acid (DNA)

يتألف جزيء الحامض النووي دي اوكسي ريبونيوكليك (DNA) من سلسلتين طويلتين متعدد النيوكليوتيدات. وتكون وحدات السكر فيه هي الدي اوكسي ريبوز. وتحتوي الخلايا بدائية النواة على جزيء واحد من ال DNA ، له وزن جزيئي يزيد احياناً على 2.000.000.000 .ويشكل حوالي 1٪ من وزن الخلية الكلي . اما الخلايا حقيقية النواة [illegible] جزيئات ال DNA وتكون عادة متحدة مع بروتينات قاعدية

كالهيستون والبروتامين ويتحدد وجود جزيئات DNA في نواة الخلية وبصورة متخصصة في الكروموسومات.

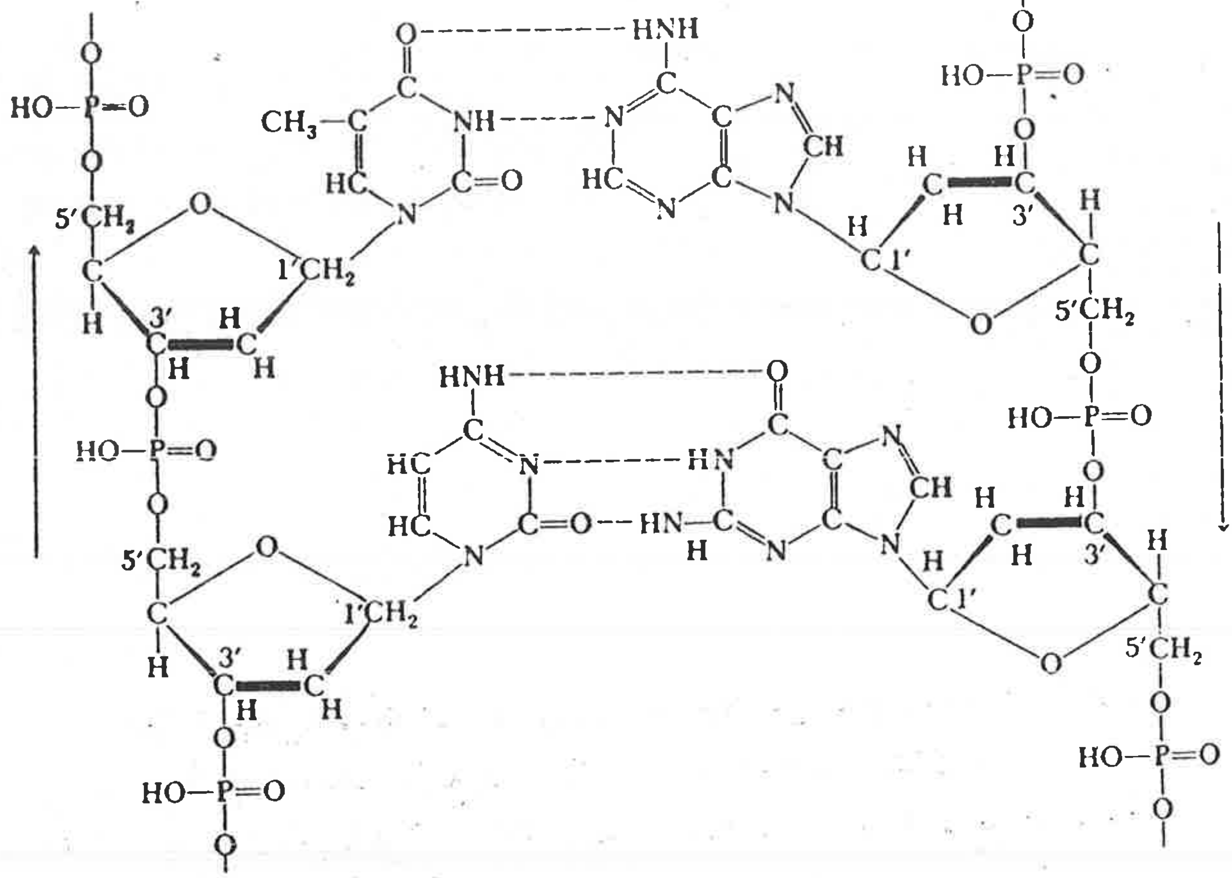
وإن الكروموسوم يتألف من الحامض النووي الدي اوكسي ريبوزي والبروتين القاعدي هيستون histone. ويوجد جزءاً قليلاً من ال DNA في الميتوكوندريا. وهكذا فإن ال DNA هو عنصر الوراثة الاساس في الخلية (انظر الفصل 14). وإن المعلومات الوراثية تكمن في التسلسل المعين (المحدد) للقواعد النتروجينية التي تؤلف سلسلتي ال DNA. إن ال DNA يحتوي على الجينات genes. وإن الجين هو جزء او مقطع صغير معين من ال DNA (الكروموسوم)، وهو دالة يحمل المعلومات الوراثية لبروتين واحد معين.

وتحتوي الاحماض النووية الدي اوكسي ريبوزية في جميع انواع الخلايا على اربع وحدات رئيسة من النيوكليوتيدات الاحادية وهي dAMP و dGMP و dTMP و dCMP (شكل 8 – 5) متصلة بترتيب (تعاقب) مختلف بوساطة الاواصر 3-5 فوسفات ثنائية الاستر.

وتختلف الاحماض النووية الدي اوكسي ريبوزية المعزولة من انواع مختلفة من الكائنات في نسبة وتسلسل الوحدات الاربع من النيوكليوتيدات الاحادية، وكذلك تختلف باوزانها الجزيئية. وقد تحوي جزيئات ال DNA اضافة الى القواعد النتروجينية الاربع الرئيسية، مشتقات لهذه القواعد ولكن بكميات قليلة جداً.

ولقد وجد العالم جاركوف Chargaff والعاملون معه عام 1950. ان مجموع نيوكليوتيدات البيورين في ال DNA مساوية لمجموع نيوكليوتيدات البايريميدين. وان كمية الادينين في ال DNA مساوية لكمية الثايمين وكذلك كمية الكوانين مساوية لكمية السايتوسين. ان تكافؤ القواعد النتروجينية بهذا الشكل ادى الى الاقتراح بان في جزيء ال DNA يقترن الادينين والثايمين مع بعض بوساطة اثنين من الاواصر الهيدروجينية. بينما يقترن السايتوسين والكوانين مع بعض بوساطة ثلاث اواصر هيدروجينية. ولقد اشارت نتائج التسحيح (المعايرة) الى ان جزيء ال DNA يتألف من سلسلتين نيوكليوتيدية طويلة مثبتة مع بعض بوساطة التآصر الهيدروجيني بين وحدات القواعد النتروجينية المتقابلة للسلسلتين (شكل 8 – 10).

ولقد اشارت نتائج التحليل الجزيئي ال DNA باستخدام تقنية الحيود لاشعة X Xray diffraction ان ال DNA يملك دورين متتاليين في تركيبه الطبيعي دوراً رئيسياً يقدر ب 3.4 Å (شكل ...) ودوراً ثانوياً يقدر ب 34 Å.



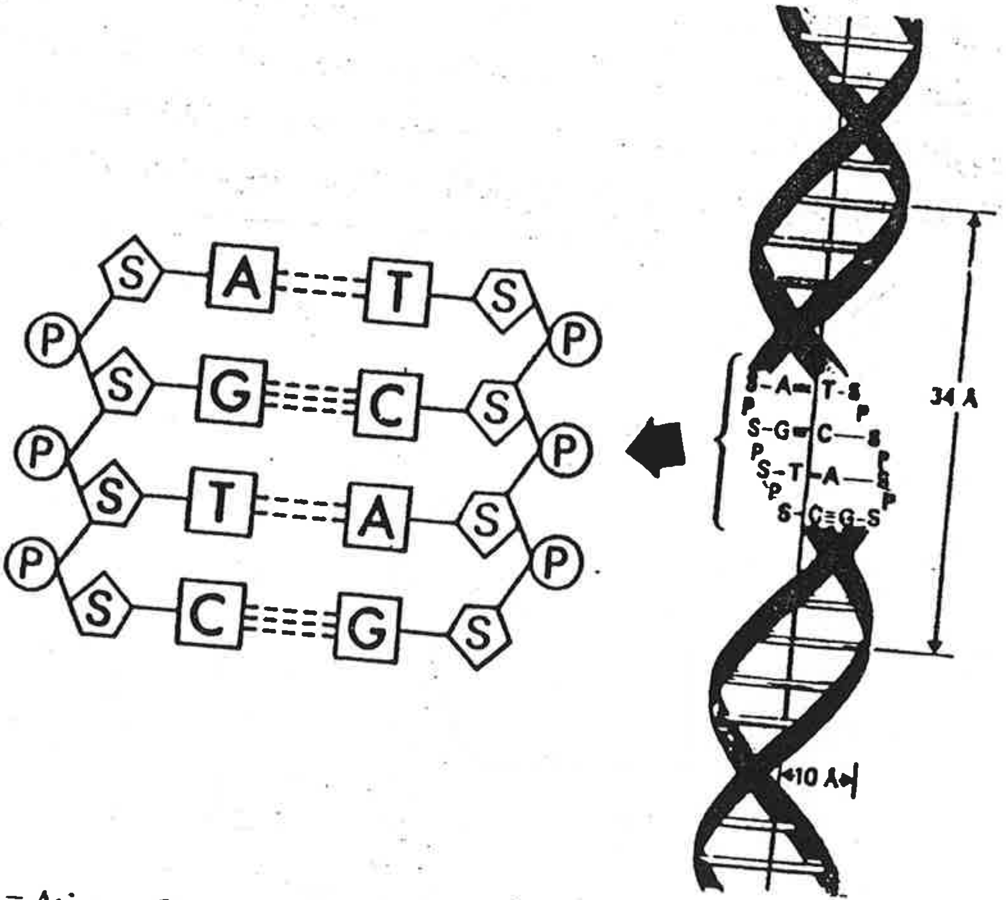
شكل (8 – 10) التآصر الهيدروجيني بين السلسلتين المتقابلتين لجزيء حامض دي اوكسي ريبونيوكليك DNA

نموذج واتسون – كريك لتركيب الـ DNA

Watson – Crick Model of DNA Structure

لقد افترض العالمان واتسون وكريك عام 1953 نموذجاً ثلاثي الابعاد لتركيب الـ DNA بعد الاخذ بنظر الاعتبار كلا من نتائج التحليل باشعة X– وتكافؤ القواعد وغيرها من الخصائص الكيمياوية والفيزياوية للـ DNA. وكذلك افتراض الميكانيكية التي بواسطتها يتم تكرار المعلومات الوراثية. ويشير نموذج واتسون – كريك (شكل 8 – 11) الى ان الـ DNA يتكون من سلسلتين حلزونيتين من متعدد النيوكليوتيد ملتفتين حول محور واحد لتكوين حلزون مزدوج double helix. وان هاتين السلسلتين تسيران باتجاهين متعاكسين (غير متوازيتين). وان قواعد البيورين والبايريميدين لكل سلسلة تكون مرتبة الى الداخل من الحلزون المزدوج وان مستوياتها توازي احداها الأخرى وان قواعد السلسلة

الملائمة هي T = A و C = G وهذه تعطي اعظم ثبات واستقرار لجزيئة ال DNA .
وبالنسبة الى الدورية 3.4 Å التي لوحظت بوساطة اشعة X فان واتسون وكريك افترضا ان القواعد المرتبة عمودياً تبعد بعضها عن الآخر 3.4 Å . وبما ان هناك عشر وحدات من النيوكليوتيد لكل لفة كاملة من الحلزون المزدوج لذا فان المسافة الثانوية المعادة هي 34 Å . وان هذه المسافات المكررة تكون ممكنة فقط عندما يزدوج (يقترن) البيورين والبايريميدين في تركيب حلزوني بالطريقة المفترضة . ان سلسلتي متعدد النيوكليوتيد للحلزون المزدوج في ال DNA تكون غير متماثلة بالنسبة لتسلسل قواعدها ولكن تكون متكاملة complementary بعضها مع البعض الآخر. فأينما يكون الادنين في السلسلة فان الثايمين يكون مقابلاً له في السلسلة الاخرى والعكس بالعكس . وبالطريقة نفسها فان الكوانين يوجد في السلسلة بينما يوجد السايتوسين مقابلاً له في السلسلة الاخرى والعكس بالعكس (شكل 8 – 11) .



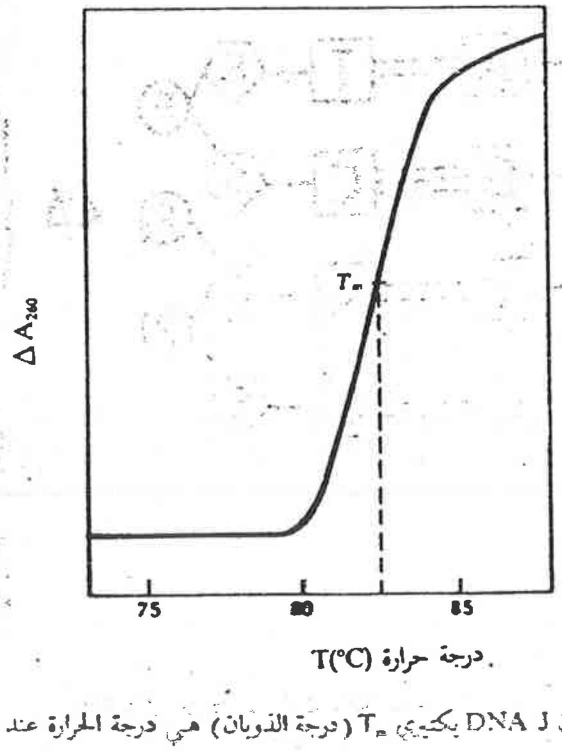
شكل (8 – 11) تركيب الحلزون المزدوج لل DNA وتعني هنا p. فوسفات ثنائية الاستر. S. دي اوكسي ريبوز. A = T هوا اقتران الادنين مع الثايمين و G = C هو اقتران كوانين مع السايتوسين

خواص فيزياوية اخرى مهمة لل DNA الطبيعي

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

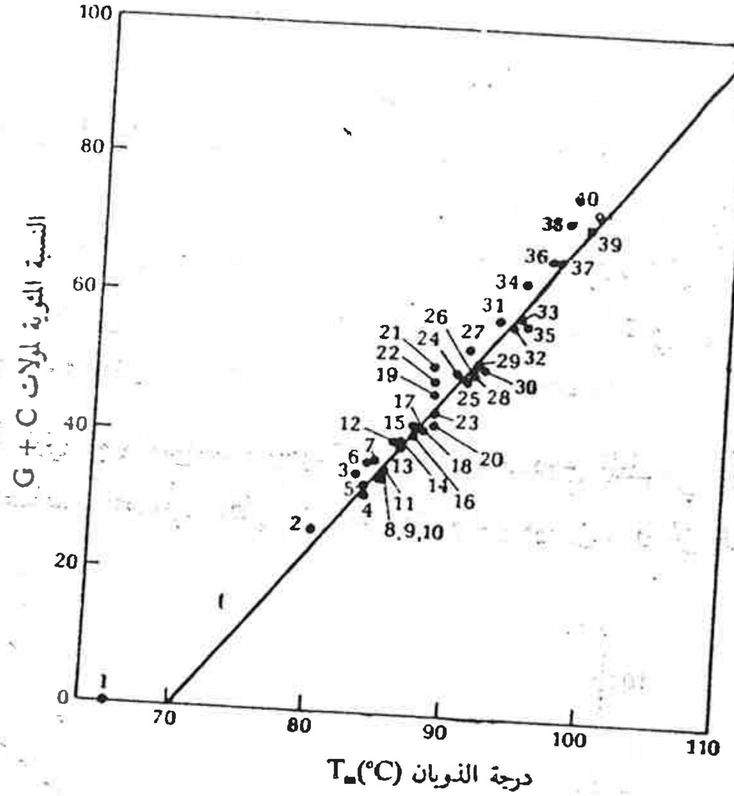
درجة ذوبان ال DNA

ان الجزيئات الطبيعية لل DNA تتحطم عادة بزيادة قليلة في درجات الحرارة وهي بهذا على العكس من البروتينات الكروية التي تفقد صفاتها الطبيعية بصورة تدريجية في مدى واسع من درجات الحرارة. ان نقطة التحول الحاد هذه تشبه درجة الذوبان الحادة للبلورات العضوية البسيطة. وفي الحقيقة فان تحطيم ال DNA او عملية تغير صفاته الطبيعية بالحرارة تعرف غالباً بالذوبان melting. وان نماذج ال DNA المختلفة لمختلف انواع الخلايا تمتاز باختلاف درجات ذوبانها ايضاً (شكل8-13). وتعرف درجة الذوبان melting tempreture., Tm بانها درجة الحرارة عند النقطة الوسطية لمنحني الذوبان (شكل 8—12). تزداد درجة الذوبان (Tm) بصورة خطية مع ازدياد ازواج قواعد C≡G



شكل (8—12) منحني الذوبان ل DNA بكتيري T_m (درجة الذوبان) هي درجة الحرارة عند منتصف ...

وذلك لان الاواصر الهيدروجينية الثلاث لل G ≡ C تكون اكثر ثباتا من الاصرتين الهيدروجينيتين لل A = T.فكلما ازدادت كمية ازواج G ≡ C كلما ازداد ثبات المركب وازدادت الطاقة اللازمة لتحطيمه شكل (8 – 14). ان التعيين الدقيق لدرجة ذوبان نماذج متعددة من ال DNA تحت ظروف ثابتة من درجة حامضية وقوة ايونية يمكن ان تعطينا بصورة دقيقة مدهشة التكوين القاعدي لـ DNA معين.



شكل (8 – 13) رسم بياني لـ T_m (درجة الذوبان) لاربعين نموذج DNA مختلف من المصادر نبات . حيوان وراشح مقابل محتوياتها من GC تحت جميع النماذج تحت ظروف متماثلة

Denaturation of DNA

تغير الصفات الطبيعية (المسخ) لل DNA

يكون الحلزون المزدوج الطبيعي لجزيء ال DNA ثابتاً تماماً عند رقم هيدروجين 7.0 ودرجات الحرارة الاعتيادية. ولكنه يعاني وبصورة سريعة تغيراً في التواءاته الحلزونية وانعداماً في ترتيبها، عندما يتعرض الى زيادة كبيرة جداً في قيمة الرقم الهيدروجيني، ولدرجات حرارة اكثر من 70-80 او عند تعرضه الى تركيز عال للكحول واليوريا وبعض المواد الاخرى. وبما ان هذه العوامل مشابهة لتلك العوامل المسببة لتغيير الصفات الطبيعية ...

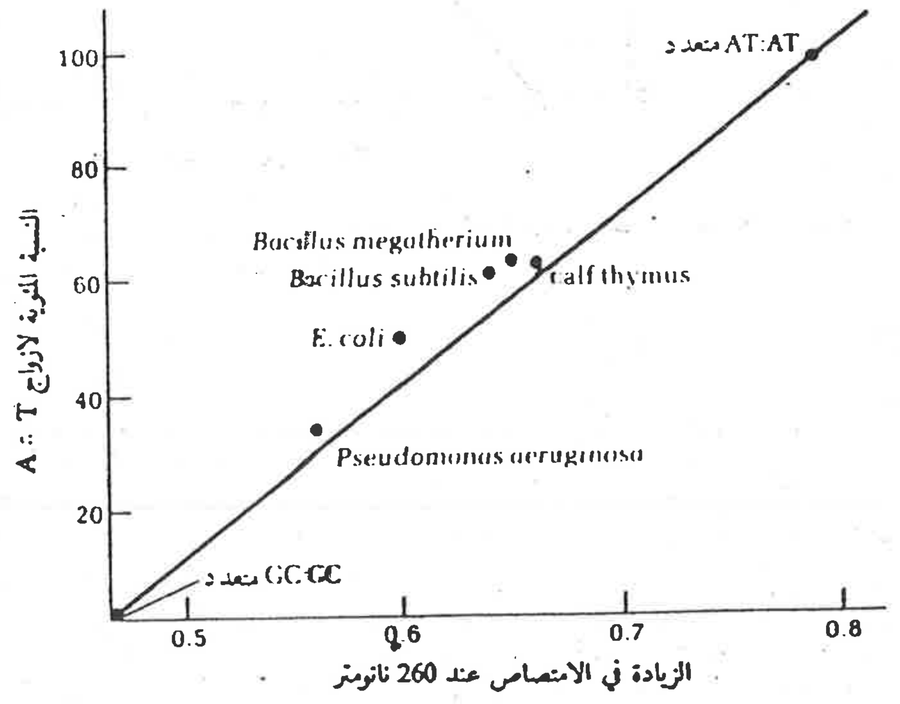
الطبيعي للـ DNA يعاني هذه العملية نفسها وان الـ DNA الطبيعي يكون ثابت التركيب بوساطة قوتين هما الآصرة الهيدروجينية ورابطة الهايدروفوبيك hydrophobic (ميل المجاميع الكارهة للماء بالتقرب مع بعض). واذا حدث ان اعيقت احدى هاتين القوتين اوكلتاهما، فإن الحلزون المزدوج يعاني من انفكاك التواءاته الى التواءات مبعثرة غير مرتبة. غير انه قد لايحدث اي كسر للاواصر التساهمية في هيكل الـ DNA.

ظاهرة زيادة الامتصاص للاشعة فوق البنفسجية من قبل الـ DNA

Hyperchromic effect of DNA

ان النيوكليوتيدات والاحماض النووية تمتص بقوة الاشعة الضوئية فوق البنفسجية عند 260 نانومتر. وعندما يمسخ الـ DNA الطبيعي فهناك زيادة نشيطة في الامتصاص الضوئي عند 260 نانومتر، ويطلق على هذه الظاهرة بـ hyperchromic.

ان التداخل الالكتروني بين القواعد الموجودة في الحلزون المزدوج الطبيعي لجزيئات DNA يقلل من الامتصاص الضوئي لكل من البيورين والبايريميدين. ولكن في حالة



شكل (8—14) الزيادة في الامتصاص عند 260 ... DNA عند تسخينها اكبر زيادة ضوئية ...

انعدام الترتيب في الحلزون المزدوج فان القواعد تتبعثر. وبهذا فانها تمتص ضوءاً اكبر وكما هو الحال عندما تكون بصورة نيوكليوتيدات طليقة.

ان نسبة ازدياد امتصاص الضوء عند التسخين لل DNA يتناسب مباشرة مع كمية ازواج القواعد T = A. وهكذا فانه يمكن حساب التكوين القاعدي لل DNA بوساطة قياسات الطيف الضوئي لتأثير الزيادة الضوئية المصاحبة للحرارة (شكل 8 — 14).

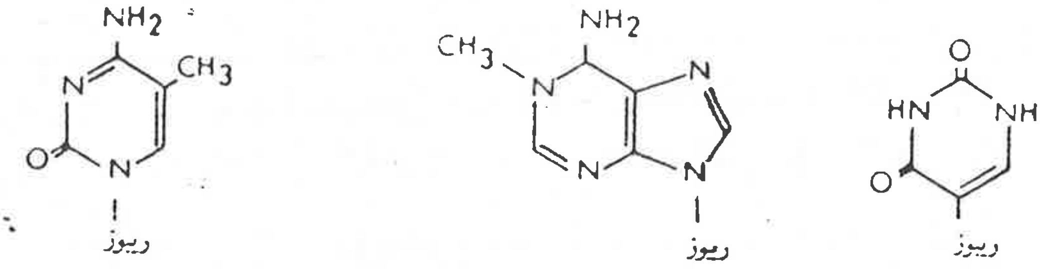
الطفرات Mutations

هناك عدة وسائل معروفة تسبب الطفرات الوراثية حيث تحدث تغيرات كيمياوية او فيزياوية لل DNA تتوارثها الاجيال (انظر الفصل 14)، ونتيجة لذلك تتكون بروتينات يكون تسلسل احماضها الامينية متغيراً (انظر الفصل 13). وغالباً ماتكون هذه البروتينات المعابة تنقصها الفعالية الحيوية الطبيعية التي قد تؤدي الى موت الكائن الحي. ويمكن ان تحدث الطفرات بوساطة الطاقة الاشعاعية على شكل اشعة X او الاشعة فوق البنفسجية او بوساطة عوامل كيمياوية لها القدرة على الارتباط الكيمياوي مع قاعدة البيورين او البايريميدين المتحورتين. مثال على ذلك حامض النتروز الذي يستطيع تحويل مجموعة امين الى مجموعة هيدروكسيل. كما ان لبعض العوامل المسببة للطفرات الوراثية القدرة على حذف او ادخال قواعد (انظر الفصل 14. جدول 14 — 1).

ان اصغر موقع لطفرة في ال DNA هو وحدة نيوكليوتيد واحدة. وفي بعض الطفرات هناك احلال قاعدة بيورين (A بدلاً من G او G بدلاً من A) او قاعدة بايريميدين محل اخرى (C محل T او T محل C). وقد تشمل الطفرات احلال قاعدة بيورين محل قاعدة بايريميدين او بالعكس. وفي بعض الاحيان تحذف عدة نيوكليوتيدات فتسبب الطفرة. وهناك امثلة للبروتينات التي نتجت عن طفرات (انظر الفصل 5).

الحامض النووي الريبوزي. حامض ريبونيوكليك Ribonuleic acid (RNA)

يتألف جزيئ حامض ريبونيوكليك (RNA) من سلسلة طويلة واحدة لمتعدد نيوكليوتيدات وتكون وحدات السكر فيها الريبوز (شكل 8 — 9). وتحوي هذه السلسلة على القواعد الرئيسية الاربع الكوانين والسايتوسين والادينين واليوراسيل. كما تحوي ايضاً بصورة متميزة على قواعد تكون من مشتقات القواعد الرئيسية الاربع، او على قواعد محورة غير شائعة (نادرة) (شكل 8 — 15)، [illegible]



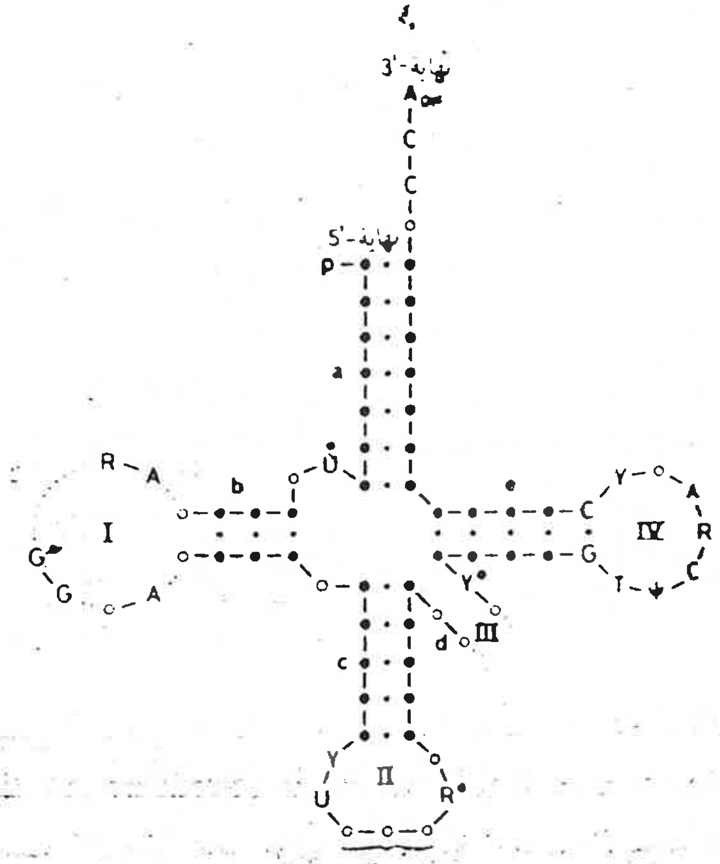
5 - مثيل سايتيدين N' - مثيل ادينوسين (Ψ) بسيودويوريدين

شكل (8-15) تركيب بعض نيوكليوسيدات متحورة موجودة في تركيب ال RNA

تكون جزيئات ال RNA في الخلية على ثلاثة انواع رئيسية . RNA الناقل transfer RNA (tRNA) و RNA الريبوسومي ribosomal RNA (rRNA) و RNA الرسول (المخبر mRNA) messenger RNA . وتوجد انواع ال RNA الثلاثة بأشكال جزيئية متعددة. وفي خلايا البكتريا E.coli ، يكون معظم ال RNA موجوداً في السايتوبلازم غير انه في الخلايا حقيقية النواة يكون ال RNA منتشراً في النواة وفي الريبوسومات والميتوكوندريا وكذلك في السايتوبلازم.

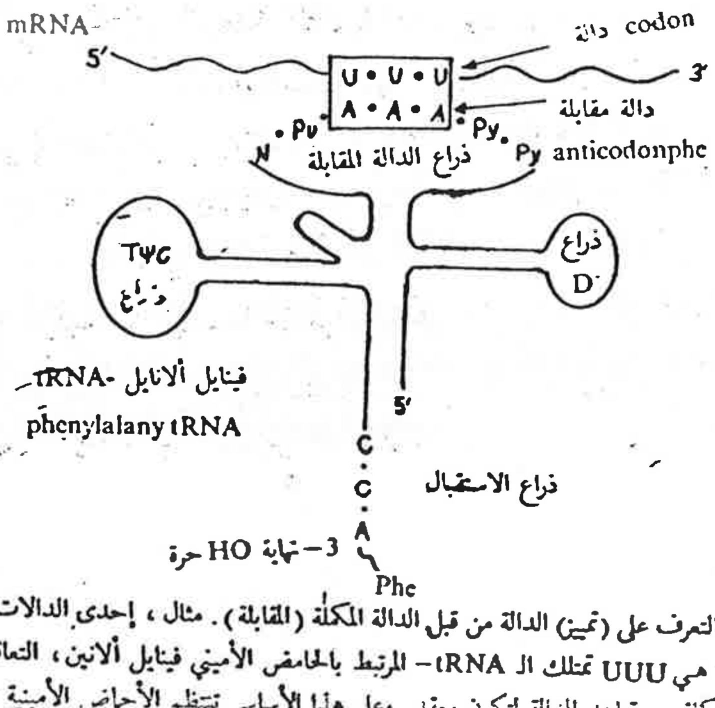
الحامض النووي الريبوزي الناقل Transfer RNA(tRNA)

يوجد ال RNA الناقل في السايتوبلازم .وهو يشكل 10-15% من ال RNA الكلي للخلية . وتعمل جزيئات ال tRNA على نقل الأحماض الأمينية الى مراكز محددة في مواقع تكوين البروتين. ويتخصص جزئ tRNA واحد على الأقل لكل خامض أميني. وقد يصل عدد جزيئات ال tRNA في الخلية الحيوانية الى 10^8 جزيئة. ويتراوح طول السلسلة النيوكليوتيدية المكونة لجزئ ال tRNA عموماً من 67 -85 وحدة نيوكليوتيد. وبالرغم من ان جزئ ال tRNA يحوي النيوكليوسيدات الأربع الشائعة الا انه يحتوي ايضاً على ريبونيوكليوسيدات اخرى نادرة وغير اعتيادية (انظر شكل 8-15) تساعد في تخصص ال RNA.ولجزئ ال tRNA تركيب ثالثي، يتضمن مناطق حلزونية والتفافات. وبصورة غالبة فان السلسلة النيوكليوتيدية لجزئ ال tRNA تكون تركيباً له شكل ورقة البرسيم Clover leaf . حيث يعطي هذا الشكل ثباتاً واستقراراً عال لجزئ ال tRNA بسبب احتوائه على اعلى درجة من التآصر الهيدروجيني بين القواعد النتروجينية للسلسلة ، (شكل 8-16) ... جزئ ال tRNA ينتهي بمتخلف أدينوسين – 3' . وهو الطرف المتأستر مع الحامض الاميني المعين ، كما تبين ايضا ان كل جزيئة tRNA ...



منطقة عكس الشفرة

شكل (8–16– أ) تركيب عام لـ tRNA بشكل ورقة البرسيم. تمثل اي من القواعد النتروجينية الاربع R. بيورين Y. بايريميدين. T. ريبوثايميدين. Ψ بسيودويوريدين R. ادينين متحور.



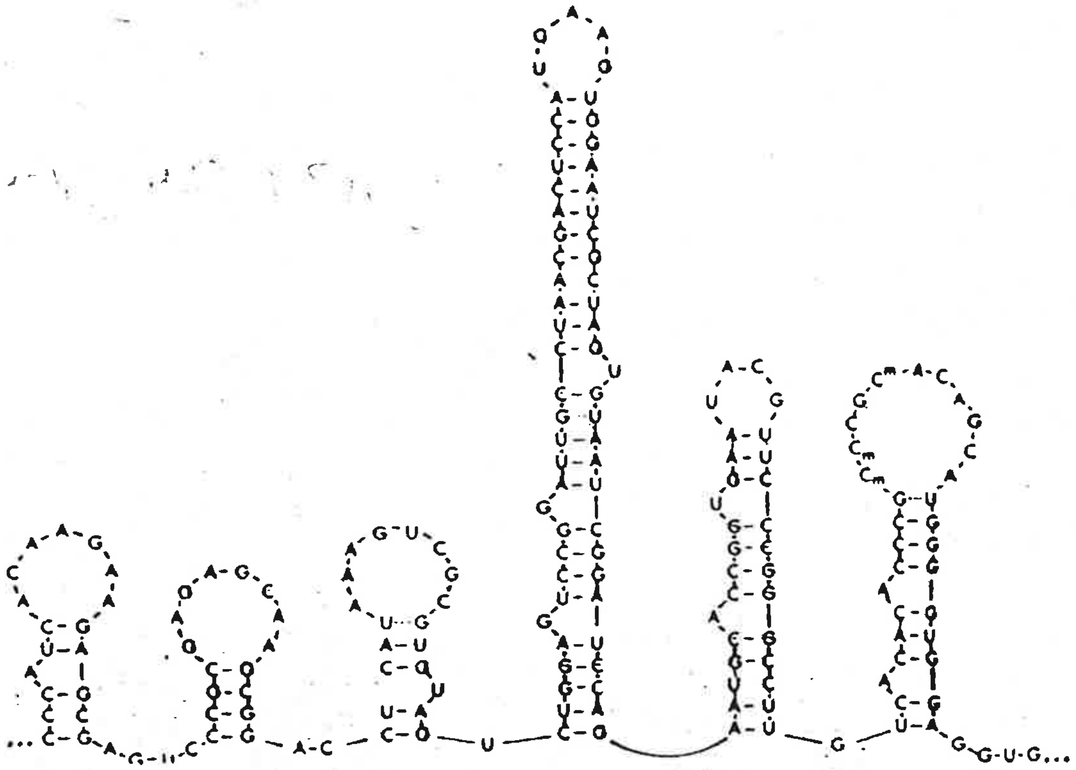
شكل (8–16 – ب) التعرف على (تمييز) الدالة من قبل الدالة المكملة (المقابلة). مثال، إحدى الدالات (Codon) للفينايل الانين على الـ mRNA هي UUU تمتلك الـ tRNA– المرتبط بالحامض الأميني فينايل ألانين، التعاقب المكمل AAA، وهذا تقابل القواعد المكملة مع قواعد الدالة لتكون معقد. وعلى هذا الأساس تنتظم الأحماض الأمينية على الـ mRNA في عملية تحويل البروتين.

على ثلاث نيوكليوتيدات متعاقبة ومحددة ، وتشغل موضعا معينا واحداً في التركيب الذي يشبه ورقة البرسيم. وتدعى هذه بالدالة المقابلة او المكملة anticodon . ويكون كل من الدالة المقابلة هذه مكملة لتعاقب نيوكليوتيد ثلاثي معين في لـ mRNA والذي يسمى بالدالة (شفرة) codon والأخير متخصص (يشفر) لحامض أميني محدد (الفصل 13 ، 14 وشكل 8-16 ب) .

الحامض النووي الريبوزي الريبوسومي Ribosomal RNA (rRNA)

يؤلف الـ RNA الريبوسومي نسبة 80% من تركيب الريبوسومات (الفصل الأول) . حيث تحتوي دقائق الريبوسومات هذه والتي يبلغ قطرها حوالي 20 نانومتر (nm) على بروتين و RNA والريبوسومات هي مواقع تكوين البروتين.

ومن المألوف . تشخيص الريبوسومات بدلالة معاملات الترسيب العائدة لها والتي يعبر عنها بوحدات سفيدبيرك (S) Svedberg . وفي الخلية الحيوانية هناك 5×10^6 من الريبوسومات تقريباً يترسب كل منها عند حوالي 80S . بينما تترسب الريبوسومات من البكتريا عند 70S . تتألف الريبوسومات عموماً من وحدتين ثانويتين مختلفتان في الحجم تعملان كوحدة متكاملة في التكوين الحياتي للبروتينات. ويحوي تركيب كل من هاتين الوحدتين على الـ RNA (الريبوسومي) الذي يؤلف أكثر من النصف. بينما يؤلف البروتين الجزء المتبقي. وتحتوي الوحدة الثانوية الصغيرة للريبوسوم على جزيء RNA (ريبوسومي) واحد وعدد من البروتينات. بينما تحتوي الوحدة الكبيرة على حزيئتين RNA (ريبوسومي) وعدد من البروتينات. ويحتوي الـ RNA الريبوسومي في الغالب على القواعد النتروجينية كوانين وسايتوسين بنسبة 50–60% من التركيب الكلي. كما يحوي على قواعد نتروجينية نادرة اخرى (شكل 8–15) . وللـ RNA الريبوسومي تركيب ثلاثي وهو يحتوي في تركيبه مناطق لحلزون مزدوج وآخر منفرد (شكل 8–17) . كما ان الـ RNA الريبوسومي يكون اغلب سطح الريبوسومات. وهكذا يسهل تداخله مع مكونات الـ RNA الاخرى اللازمة لعملية تكوين البروتين.

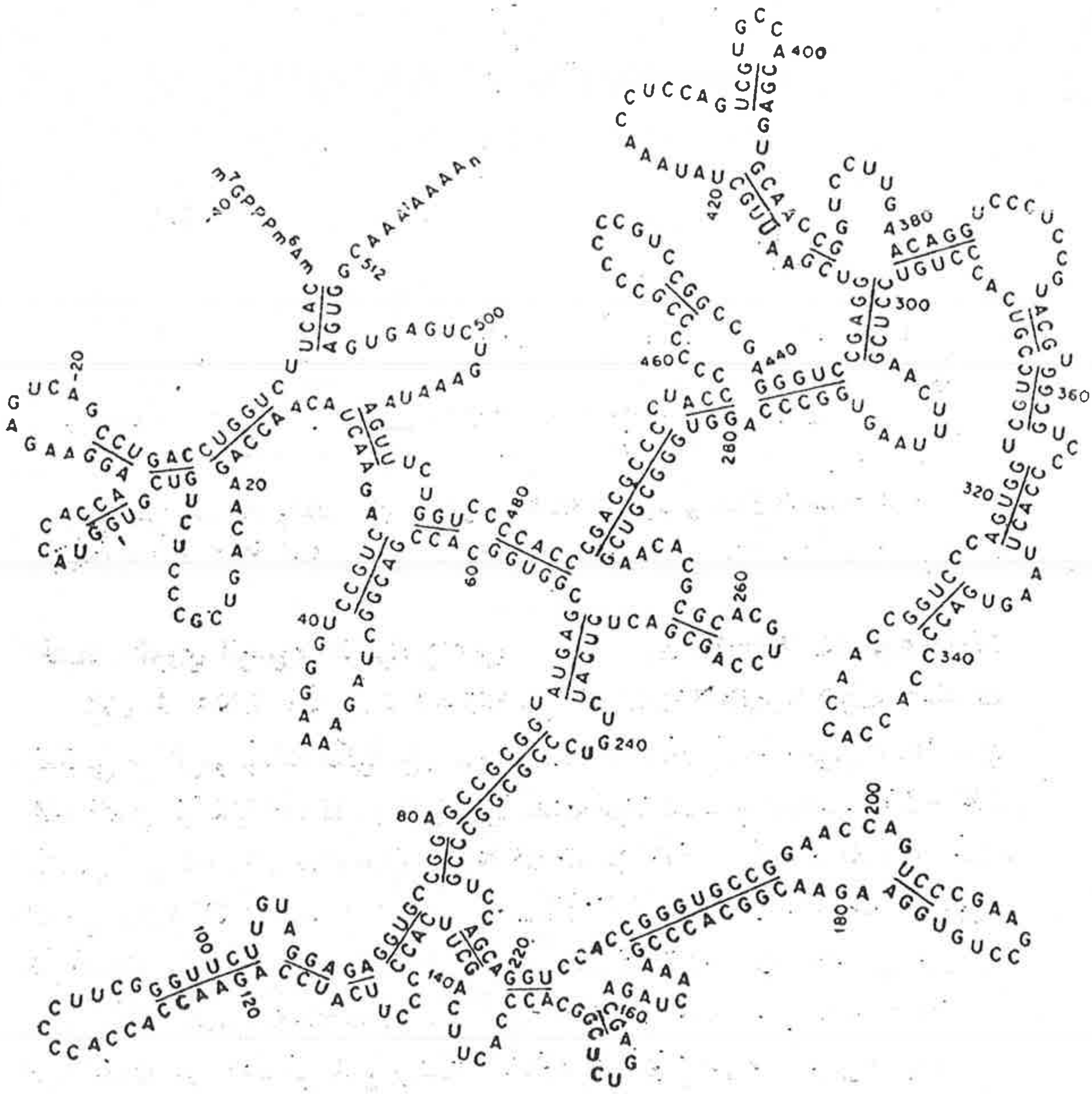


شكل (8 – 17) التركيب الثانوي الغالب، لجزء صغير من جزيئ الـ RNA الريبوسومي 16S في E.coli (m تشير الى متخلف نيوكليوتيد مضافاً اليه مجموعة مثيل).

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

يؤلف الـ RNA المخبر نسبة 3 – 5% من الـ RNA الخلوي . ويتميز باتحاده العكسي مع الريبوسومات مكوناً بولي سومات polysomes . ويوجد حوالي 1000 جزيئ mRNA في البكتريا E.coli . وعندما يكون معدل طول السلسلة البروتينية 300 – 500 حامض أميني فانه يكون طول جزيئ الـ mRNA المطابق، 900 – 1500 نيوكليوتيد . حيث ان كل جزيئ mRNA يحمل شفرات (رموز لمعلومات) تحدد تكوين نوع واحد من البروتين. غير أن هناك جزيئات mRNA تحمل شفرات تحدد تكوين اكثر من نوع واحد من جزيئات البروتين وهذه تدعى mRNA بولي سيسترونيك polycistro nic mRNA ، وبالطبع فهي تحتوي على عدد من النيوكليوتيدات أكثر (انظر فصل 14) . وتتميز جزيئات الـ mRNA في بعض الخلايا الحقيقية النواة وبدائية النواة باحتوائها على متخلفات ادينوسين متعاقبة ومتصلة عند الطرف –3 ويتراوح عددها 60 – 200 . ويعتقد ان لجزيئات mRNA تراكيب بجسامية مختلفة (أنظر شكل 8 – 18) . وتتكون جزيئات الـ mRNA داخل نواة الخلية بآلية معينة تدعى الاستنساخ transcription بحيث يكون تسلسل

القواعد النتروجينية في الـ mRNA مكملاً لتسلسل قواعد نتروجينية في سلسلة الحامض النووي DNA (انظر الفصل 14). بعد ذلك تنتقل جزيئات mRNA المختلفة الى الريبوسومات، مواقع تكوين البروتين في السايتوبلازم، حيث تحدد ترتيب (تعاقب) الأحماض الأمينية خلال تكوين البروتينات. (انظر فصل 13).



شكل (8–18) التركيب الثانوي لـ mRNA الذي يشفر تسلسل الأحماض الأمينية لبروتين α – كلوبين في الارنب. ان الجزئين المظللين يشيران الى كودون (دالة ثلاثية) الابتداء وكودون الانتهاء. ويمثل الحرف m مجموعة مثيل. كما يشار الى اقتران الازواج بالخطوط الموجودة بين النيوكليوتيدات (U.C.G.A) المقترنة. ولقد رقمت النيوكليوتيدات ابتداءاً من النيوكليوتيد الذي [illegible] الابتداء مباشرة (انظر فصل 13، 14).

وتحوي الخلية الواحدة على مئات من جزيئات الـ mRNA الرسول المختلفة.

وهكذا بمشاركة كل من الحامض النووي الرايبوسومي rRNA والناقل tRNA والرسول mRNA، تتم عملية بناء البروتينات في الريبوسومات.

ويبلغ نصف عمر الـ mRNA في البكتريا أقل من دقيقتين وهو وقت طويل نسبياً إذا قورن بالوقت 10–20 ثانية وهو الوقت اللازم لتكوين جزيئة بروتين كاملة!. ويكون نصف العمر الـ mRNA في الخلايا الحيوانية بضع ساعات او ايام، حيث تكون سرعة تكوين البروتين بمعدل 100 آصرة ببتيدية في الدقيقة الواحدة!.

تمرينات الفصل الثامن

1 – نظم الأواصر التالية طبقاً للمواصفات المعطاة في أ. ب. جـ. د.

i. آصرة فوسفاتية ثنائية الآستر.

ii. آصرة كلايكوسيدية.

iii. آصرة استرفوسفات.

iv. آصرة هيدروجينية.

أ– تربط النيوكليوسيد بحامض الفوسفوريك.

ب– تصل بين شريطي الـ DNA.

جـ– تربط بين القاعدة النتروجينية مع السكر الخماسي.

د– تربط النيوكليوتيدات مع بعض في الـ RNA.

2– أي من المقالات الآتية المتعلقة بمحتويات الـ DNA من القواعد. هي المخطوءة.

أ– $A + T = G + C$

ب– $A = T$

جـ– $G = C$

د– $A + G = C + T$

2– أي من المرافقات الأنزيمية التالية لاتحتوي في تركيبها على نيوكليوتيد.

أ– FAD

ب– NAD^+

جـ– CoA

د– CoQ