البروتينات

هي مركبات كيميائية حيوية وتعتبر من أنواع المركبات العضوية النيتروجينية وهي مواد معقدة من ناحية التركيب البنائي وتتكون أساساً من عدة عناصر تشمل C , H , O , S وبعضها يدخل في تركيبة عنصر الـــ P والحديد والنحاس التي تختلف كميتها في البروتينات المختلفة .

وهي توجد في جميع الكائنات الحية ولها أهمية كبيرة من عدة نواحي مثل :

١- لكونها مكون أساسي لبروتوبلازم وكروموزمات الخلايا الحية في كثير من الأنسجة في جسم الإنسان والحيوان .

٢- لكونها تدخل في تكوين عدد من المركبات ذات القيمة والتأثيرات الحيوية الهامة كالأنزيمات وبعض الهرمونات والأجسام المضادة وعوامل التخثر والمناعة .

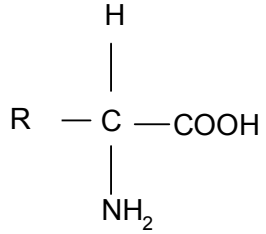
٣- كما انها تمثل مواد غذائية ضرورية لكل من الإنسان والحيوان حيث توجد في المنتجات الغذائية ذات المصدر الحيواني كالبيض واللحوم والألبان وذات المصدر النباتي كالحبوب والبذور والبقوليات.

٤- كما ان لها قيمة صناعية كبيرة كمواد خام مثل الصوف والشعر والحوافر وتدخل في صناعة البلاستيك والمنسوجات الصناعية .

<u>الأحماض الأمينية :</u>

هي وحدة البناء الرئيسية لمادة البروتين حيث يتكون البروتين من أحماض أمينية مختلفة ترتبط مع بعضها في جزيئات البروتين وتنتظم على هيئة سلاسل طويلة ذات وزن جزيئي كبير.

والأحماض الأمينية تتكون كيميائياً من مجموعة حمضية عبارة عن مجموعة الكربوكسيل (-COOH) ومجموعة الأمين القاعدية (-NH2) وتختلف تلك الأحماض عن بعضها في موضع مجموعة الأمين بالنسبة لمجموعة الكربوكسيل في الجزئ فقد ترتبط بالوضع الفا او بيتا او جاما ولكن البروتينات الطبيعية تتميز باحتوائها على النوع ألفا ولها الصيغة البنائية العامة التالية :

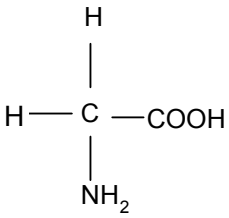


وبذلك تختلف الأحماض الأمينية بتركيبهاحسب نوع المجموعة R التي قد تكون سلسلة هيدروكربونية اليفاتية مستقيمة او متفرعة او حلقية اوعطرية تحتوي حلقة بنزين .

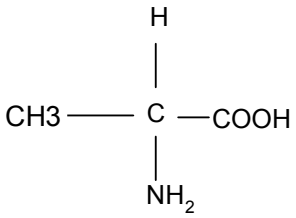
وتصنف الأحماض الأمينية على أساس عدد المجاميع الحمضية الكربوكسيلية والقاعدية الأمينية الى الأقسام التالية :

١- أحماض أمينية متعادلة : وهي التي تحتوي على عدد متساوي من تلك المجموعات الكربوكسيلية والأمينية في الجزئ .

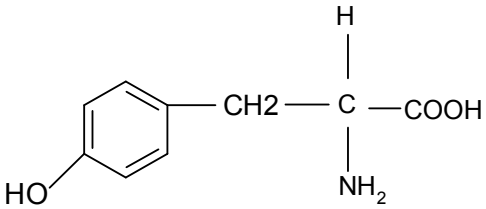
ومثال عليها :



جلايسين

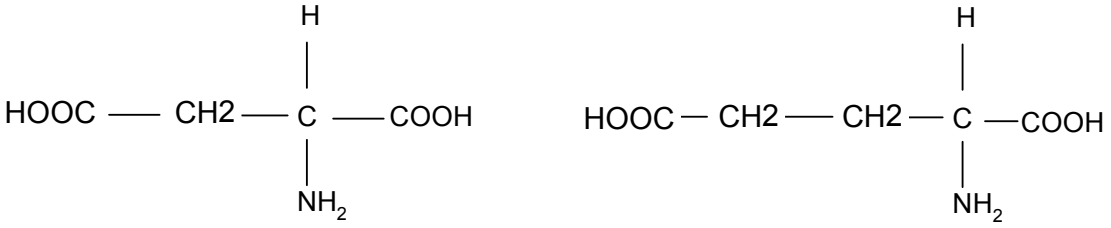


آلانين



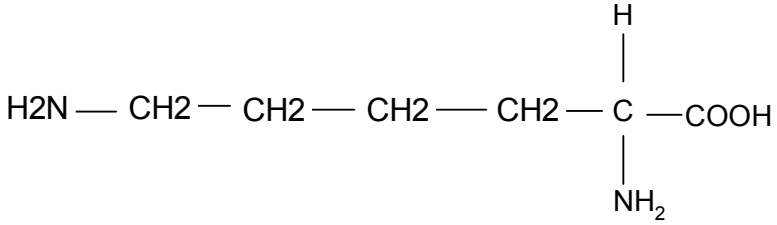
ثيروسين

٢- أحماض أمينية حمضية : وهي التي تحتوي على مجاميع حمضية كربوكسيلية في الجزئ ذات عدد اكبر من المجاميع القاعدية الأمينية .

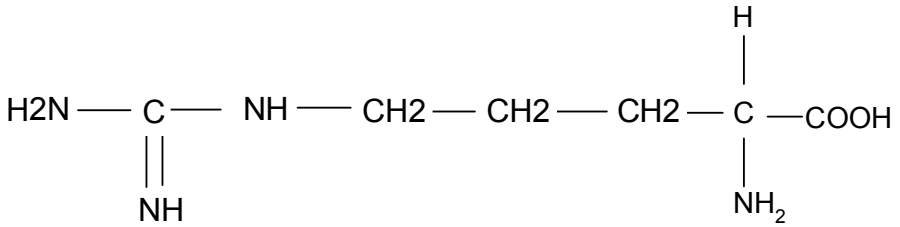


حمض أسبارتيك　　حمض جلوتاميك

٣- أحماض أمينية قاعدية : وهي التي تحتوي على مجاميع قاعدية امينية في الجزئ ذات عددأكبر من المجاميع الحمضية الكربوكسيلية .



لايسين



أرجنين

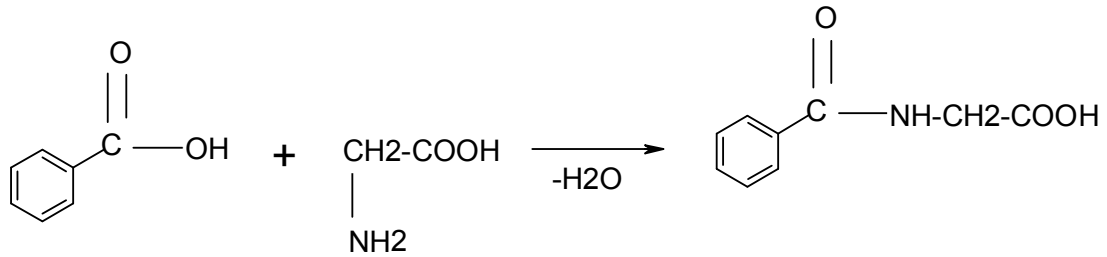
كما تحتوي بعض الأحماض الامينية على عنصر الكبريت الذي يوجد في حالة ثنائي كبريتيد (-S-S-) أو على حالة مجموعة سلفوهيدريل SH– كما تحتوي مجاميع قطبية مثل OH ويلاحظ أيضاً أن الاحماض الامينية تتميز باحتوائها على الأقل ذرة كربون واحدة غير متماثلة ماعدا الجلايسين ولذا يكون لها متشابهات ضوئية أحدهما D والآخر L ولذا تمتلك فعالية ضوئية وقد وجد أن جميع الأحماض الأمينية يمكن الحصول عليها

بالتحلل المائي للبروتينات او بالتحضير الكيميائي في المختبر ولها خواص كيميائية تتضمن التفاعلات الخاصة بالمجموعة الكربوكسيلية والأمينية .

الوظائف الحيوية للأحماض الأمينية :

١- تكون الأحماض الأمينية الوحدات البنائية للبروتينات ولذا فهي مصدر للطاقة يتم حرقة واكسدته للحصول على الطاقة في جسم الإنسان والحيوان .

٢- تسهم في إزالة المواد الضارة من الجسم (إزالة التسمم) حيث يتخلص بواسطتها جسم الحيوان من حمض البنزويك باتحادة مع الجلايسين ليكون حمض الهيبيوريك كما توضح المعادلة :



ويقوم كذلك حمض الأورنثين بهذه العملية في الطيور كما يتحد حمض الجلوتامين مع فينيل حمض الأسيتيك للتخلص من في جسم الإنسان .

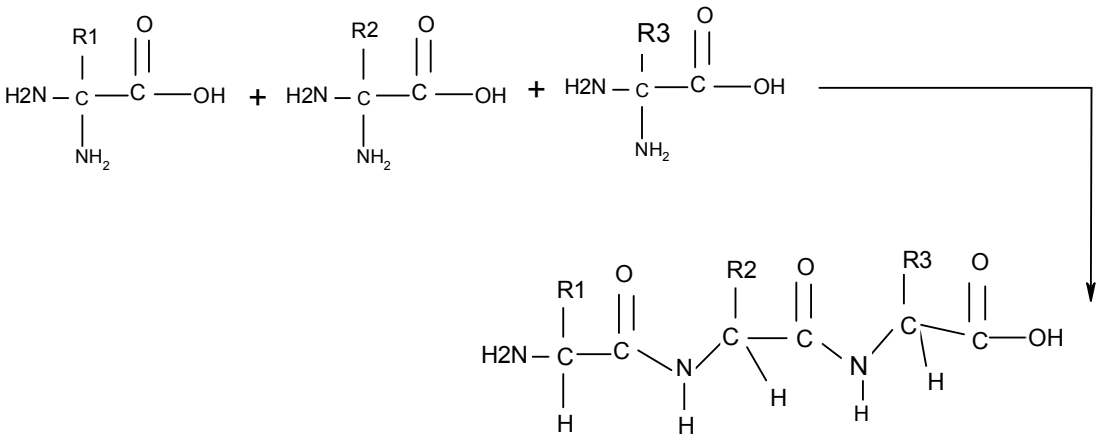
٣- بعض الأحماض الأمينية تقوم بنقل المجموعات الامينية من مركب الى آخر او إدخال مجموعة ميثيل CH3 الى بعض المركبات في عمليات التكوين الحيوية داخل خلايا أنسجة الكائنات الحية .

٤- بعض الهرمونات وغيرها من المركبات التي تقوم بعمل حيوي كعوامل مساعدة يلزم لتكوينها وجود انواع معينة من الأحماض الأمينية ومثال ذلك الثيروسين يتكون منه هرمون الثيروكسين.

٥- تشكل الأحماض الأمينية عناصر غذائية هامة يؤدي نقصها او انعدامها الى أضرار مختلفة للإنسان والحيوان ومثال ذلك فإن نقص حمض التربتوفان واللايسين في الغذاء يسبب نقص في وزن الجسم ومن الضروري تواجد تلك الأحماض في المواد الغذائية لاهميتها في نمو الجسم ولذا تنقسك الأحماض الأمينية الى نوعين أساسي وغير أساسي حيث ان الأساسية منها هي التي لا يستطيع الجسم تكوينها بنفسه ويتاج الجسم للحصول عليها من مصدر غذائي خارجي.

<u>الببتيدات وتكوين الرابطة الببتيدية :</u>

عندما ترتبط الأحماض الأمينية مع بعضها باتحاد مجموعة كربوكسيل لأحدهما مع مجموعة أمينية في الحمض الآخر ويتم فقد جزئ ماء وتكوين رابطة جديدة تسمى الرابطة الأميدية الببتيدية والمركب الناتج من اتحاد جزيئين أو ثلاثه من الأحماض الأمينية (متماثلين أو مختلفين) بالرابطة الببتيدية ويكون في تلك الحالة ثنائي ببتيد او ثلاثي كما توضح المعادلة التالية :



واذا احتوى الببتيد على عدد كبيرمن وحدات الحمض الأميني يسمى عديد ببتيد ولذا قد تكون السلاسل الببتيدية قصيرة أو طويلة تبعاً لعدد الوحدات المكونة لها بحيث يكون لها طرفين أحدهمايحتوي مجموعة كربوكسيل حرة والآخر يحتوي على مجموعة امينية حرة.

تركيب الببتيدات :

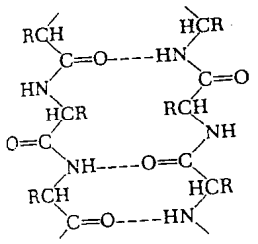
تعتمد الخواص الكيميائية والحيوية لجزئ البروتين على تركيبة الجزيئي كما يوجد عليه في حالتة الطبيعية وتتفاوت البروتينات في درجة تعقيدها من سلسلة بسيطة عديدة الببتيد مثل الفازوبرسين الى سلسلة معقدة مثل بروتين الميوجلوبين ويوجد أربعة أنواع من التراكيب البنائية للبروتينات وهي :

أ-التركيب الأولي :

وهو الذي على أساسه تتحدد معرفة أنواع الأحماض الأمينية وتتابعها وترتيبها في سلسلة جزئ البروتين البسيط العديدة الببتيدية .

ب- التركيب الثانوي :

وهو الذي يفسر تشكل اغلب البروتينات في صورتها الطبيعية الليفية مثل بروتين الفيبروين في الحرير او الكروية مثل الألبومين في الدم والبيض حيث أن السلاسل الطويلة للجزيئات الببتيدية العديدة تلتف في أوضاع غير منتظمة متصلة أو ممسوكة في أشكال مطوية بروابط هيدروجينية وهذا التأثير لتلك الروابط يعرف بالتركيب الثانوي للبروتين وقد تتكون تلك الروابط الهيدروجينية بين عدة مجموعات مختلفة على السلسلة الببتيدية ولكن بعضها يحدث بين مجموعات الكربونيل والأميد للسلاسل كما يوضح الشكل :



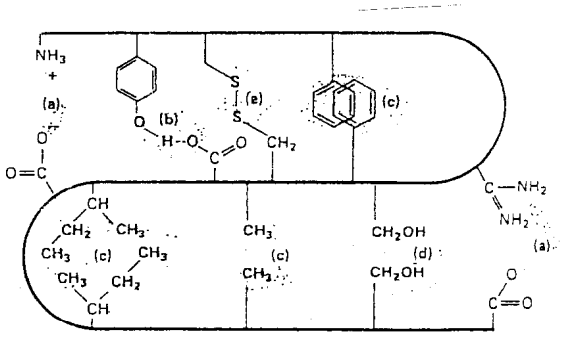
الروابط
الهيدروجينية بين مجموعات
الكربونيل والإميد على سلاسل
البيتيد العديد (البروتين)

وهذا النوع من الربط الهيدروجيني يوضح إتصال السلاسل المتوازية عديدة الببتيد معاً والتي توجد في البروتينات الليفية كما أنه يؤدي الى تكوين الشكل اللولبي (المسمى حلزون α) والذي أقترحه العالم بولنج (الحاصل على جائزة نوبل في الخمسينات) ويتكون الشكل اللولبي لجزئ البروتين من سلسلة من جزيئات

الأحماض الأمينية التي التفت على شكل لولب ممسوكة معاً بروابط هيدروجينية بين مجموعة كربونيل من حمض اميني مع مجموعة أميد من حمض أميني آخر وكلاهما على نفس السلسلة بحيث يبعد كل منها عن الحمض الآخرالمتصل به مسافة 1.5 A° بحيث يعمل اللولب لفة كاملة كل حوالي 3.6A° وحدة حمض أميني ويكون اتجاه حلزون اللولب إما الى اليمين او الى اليسار ولكن الإتجاه الأكثر ثبات يكون الى اليمين.

التركيب الثالثي :

وهو التركيب الذي تتخذه سلاسل البروتين الكروية الببتيدية والتي تكون ذات طيات مكثفة ولفات على بعضها اكثر من البروتينات الليفية وهذا ناشئ عن نشاط أو تكون عدد من انواع الروابط المختلفة التي تمسك التركيب في هذا الشكل العالي من درجة التعقيد وتلك الروابط تكون مسؤلة عن التركيب الثالثي للبروتينات وهي أقوى من الروابط الهيدروجينية في مسك الروابط البولي ببتيدية معاً او مسك الطيات في السلاسل المنفردة حيث يتكون مثلاً روابط تساهمية بين جزيئين من أحماض السيستئين فينتج عنها رابطة ثنائي سلفايد (-S-S-) أو روابط ايونية بين أحماض امينية قاعدية مثل الأسبارتيك والجلوتاميك بجزئ البروتين وهناك أيضا امثلة لروابط فيزيائية اخرى كارهة للماء والتي توجد بين مجموعات اروماتية وأليفاتية غير قطبية في الاحماض الأمينية كما يوضح الشكل :



بعض أنواع الروابط التي تعمل على ثبات تركيب البروتين .

التركيب الرابعي :

وهذا النوع من التركيب البروتيني يتعلق ببلمرة او درجة تجمع البروتين أو وحداتة البروتينية ويعتبر الهيموجلوبين أبرز مثال لذلك النوع من التراكيب حيث انه بصورته الطبيعية له وزن جزيئي في المحلول المتعادل أكبر من وزنه الجزيئي في المحلول الحمضي او المخفف او عند اذابته بمحلول اليوريا ويرجع ذلك الى أن السلاسل عديدة الببتيد الاربعة المكونة له والتي توجد على هيئة زوجين من نوع ألفا او بيتا تنفصل عن بعضها وتؤدي لأنقسام الجزئ وهناك عدة انواع من البروتينات التي تنقسم لوحدات أصغر عندا تتحول فيها الروابط ثنائية السلفيد الى مجموعات سلفوهيدريل .

<u>تصنيف البروتينات من ناحية البنية الكيميائية</u>

البروتينات البسيطة

وهي تشمل تلك التي لا ترتبط فيها سلاسل الاحماض الأمينية فيها بمركبات آخرى وينتج عن تحللها مائياً أحماض أمينية او مشتقاتها فقط وهي بدورها تنقسم تبعاً لاختلاف خاصية الذوبان لها في الماء أو المحاليل المخففة لبعض الاملاح أو الاحماض والقواعد او في درجة تأثرها وترسبها بالحرارة ومن انواعها :

الالبومينات مثل البومين البيض والدم ومنها البروتامينات القاعدية ذات الخواص القاعدية الشديدة والهستونات التي بها نسبة مرتفعة من الأحماض القاعدية مثل الجلوبين المرتبط مع الهيم في جزئ الهيموجلوبين وكذلك الجلوبيولينات مثل سيرم الدم واللاكتوجلوبيولين في الحليب والجلوتيلينات مثل الجلوتينين الموجود بالقمح ومنها البرولامينات مثل الزايين الموجود بالذرة والجليادين الموجود بالقمح ومنها البروتينات القرنية والألبيومينويدات مثل كيراتين الشعروالصوف والريش وقرون وحوافر الحيوانات .

البروتينات المرتبطة :

وهي تتكون من احماض أمينية مرتبطة مع جزيئات أخرى مختلفة ومنها :

١- البروتينات النووية مثل الهستونات والبروتامينات التي تتحد مع حمض نووي وتوجد ي انوية الخلايا وفي السيتوبلازم والميتوكندريا.

٢- البروتامينات الفوسفاتية ويطلق عليها فوسفوبروتينات حيث ترتبط مع حمض فوسفوريك على حالة استر مثل كازين الحليب والفيتيلين في صفار البيض وكازين اللبن يسمى كازينوجين ويتحد مع الكالسيوم.

٣- الجلايكوبروتينات وهي ترتبط مع جزئ كربوهيدراتي ومنها الميوسين الموجود في اللعاب.

٤- البروتينات الملونة ويطلق عليها الكروموبروتينات ومنها الهيموجلوبين والسايتوكرومات وفيها يتحد البروتين مع مركب ملون مثل الهيم

٥- الليبوبروتينات وهي بروتينات متحدة مع ليبيدات مثل الدهون أو الاحماض الدهنية أو الليسيثين والتي توجد في سيرم الدم والمخ والأنسجة العصبية.

البروتينات المشتقة

عندما تتاثر البروتينات البسيطة او المرتبطة ببعض العوامل الطبيعية او الكيميائية أو الحيوية يتغير تركيبها الطبيعي ولكنها تحتفظ بمعظم الخواص العامة للبروتينات وعند ذلك تسمى بروتينات مشتقة ومن البروتينات المشتقة زلال البيض المتجلط بالحرارة وبعض نواتج التحلل المائي غير التام للبروتينات بواسطة الإنزيمات فيتحلل البروتين فيها على خطوات كالتالي :

بروتين ← ميتا بروتين ← بروتيوز ← ببتون ← عديد ببتيد ←

أحماض أمينية ← ببتيد بسيط ←

لمحة موجزة عن الطرق المستخدمة لدراسة تركيب البروتينات

ومنها طرق فصل وتقدير الاحماض الأمينية بعد تحلل البروتينات مائياً :

كان يعتقد في الخمسينات أن فصل الاحماض الامينية المختلفة عن بعضها المكونة للبروتينات ذات الوزن الجزيئي الكبير عملية يصعب الوصول اليها ولكن أصبح الآن من السهولة إجراء عملية فصل وتقديرالعديد منها كمياً في محاليلها وأمكن ايضاً التعرف على طريقة تتابع هذه الأحماض الأمينية في جزئ البروتين وبالتالي امكانية تحديد التركيب الأولي للبروتين بعد تطور طرق الفصل الكروماتوجرافي والفصل الكهربي .

أ- الفصل الكروماتوجرافي على الورق PC

وهي طريقة بسيطة نسبياً وتعطي نتائج جيدة لفصل الأحماض الأمينية والتعرف عليها وتقديرها كمياً حيث يمكن معرفة أنواع الأحماض الأمينية المكونة لهذا البروتين وذلك بمقارنة المسافة التي يقطعها كل حمض اميني تم فصله بواسطتها من مزيج الأحماض في البروتين المتحلل مع المسافات التي قطعتها مثيلاتها من عينات معروفة من بعض الأحماض الأمينية .

ب- الفصل الكروماتوجرافي على الطبقة الرقيقة TLC

هي طريقة حديثة يتم إجرائها على طبقة رقيقة من مادة خاملة مثل السليكاجل أو السليلوز توضع على لوح زجاجي حيث تحمل المذيبات الاحماض المفصولة خلال تلك الطبقة الرقيقة لمسافة معينة وهذا الفصل يأخذ وقت أسرع من الفصل على الورق باستخدام أنواع مختلفة من المذيبات والصبغات التي تعطي ألوناً مع الأحماض الامينية المفصولة .

جـــ - الفصل الكروماتوجرافي على الأعمدة بالتبادل الأيونية :

ويتم فيه استعمال عدة أنواع من الأعمدة معبأة على النشا أو السليلوز أو الألوميناجل

ولكن وجد أنه من الصعب فصل الاحماض الأمينية التي لهاصفات متشابهه عن بعضهاباستخدامهاولكن بواسطة التبادل الأيوني يمكن إجراء ذلك بمنتهى الدقة حيث يستخدم فيها مواد راتنجية صناعية لا تذوب بالماء أو المذيبات الأخرى وتحتوي على أماعلى مجموعات حمضية اوعلى مجموعات قاعدية مثل مجموعات $-SO_3H$, $-OH$ مثل البولي ستيرين السلفونية تستعمل كراتنجات كاتيونية وذلك بإضافة أيونات الصوديوم إليها لتنتج مجموعات $-SO_3Na$ على سطح الراتنجات وتتفاعل الأحماض الأمينية القاعدية مع الراتنجات الكاتيونية كما يلي :

$$\text{Resin-}SO_3^-Na^+ + \underset{\underset{Cl}{|}}{\overset{+}{N}}H_3\text{-R} \longrightarrow \text{Resin-}SO_3^- \text{—} \overset{+}{N}H_3\text{-R} + \overset{+}{N}a\,Cl^-$$

وللحصول على أفضل النتائج لإزالة الأحماض الأمينية من العمود تقلل درجة الحموضة للمحلول ويرفع تركيزالمحلول المنظم المستعمل في رفع الأحماض الأمينية القاعدية خارج العمود ويمكن توضيح إزالة الأحماض الأمينية المرتبطة مع الراتنجات بواسطة محلول منظم من سترات الصوديوم كما يلي :

$$\text{Resin-}SO_3^- \text{—} \overset{+}{N}H_3\text{-R} + \overset{+}{N}a\,\overset{-}{Citrate} \longrightarrow \text{Resin-}SO_3^-\overset{+}{N}a + \overset{+}{N}H_3\text{-R}\,\overset{-}{Citrate}$$

وباختيار نوع الراتنج المناسب والمحاليل المنظمة وطول العمود ودرجة الحرارة ومعدل إزالة الأحماض الأمينية المفصولة وتجميعها بأحجام متساوية على فترات متتالية متساوية ويوصل بجهاز للتحليل الأتوماتيكي وأصبح بالأمكان في ساعات قليلة فصل وتحليل الأحماض الأمينية كمياً بمخاليطها الناتجة عن التحليل المائي للبروتين .

<u>التعرف على نظام تتابع الأحماض الامينية في الببتيدات والبروتينات:</u>

بعد ان وضع سانجر الأساس لمعرفة نوع الأحماض الأمينية ونظام تتابعها في جزئ البروتين قام علماء الكيمياء الحيوية الىخرون بتطبيقها لدراسة الببتيدات ذات الجزيئات الجزيئات الكبيرة مثل انزيم الرايبونيوكليز الذي يحتوي على ١٢٤ حمض أميني وبعض الهرمونات الببتيدية مثل الأوكسيتوسين والفزوبريسين .