الجـــزء الأول

الجزيئات البيولوجية : التركيب والوظيفة البيولوجية

Biomolecules : Structure and Biological Function

* الأساس الجزيئى لتركيب ووظيفة الخلية
* المـــاء
* الكربوهيدرات
* الليبيدات
* الأحماض النووية وعناصرها
* البروتينات
* الإنزيمات
* الفيتامينات والمرافقات الإنزيمية

obeikandl.com

تتألف كل الكائنات الحية من الخلايا التى تُمثِّل الوحدة البنائية والوظيفية للكائنات الحية. ورغم اختلاف الخلايا الحية بدرجة كبيرة فى الشكل والوظيفة، فإنها تتشابه بدرجة كبيرة فى مكوناتها الكيميائية. فتحتوى كل الخلايا على الماء الذى تختلف نسبته باختلاف نوع الخلية. كما تحتوى الخلايا الحية أيضا على العديد من المركّبات العضوية، وهذه المركبات العضوية وان كانت كثيرة العدد إلا أن معظمها يمكن تقسيمه إلى أربعة أقسام هى الكربوهيدرات والليبيدات والبروتينات والأحماض النووية.

بالإضافة إلى هذه الاقسام الأربعة الرئيسية للجزيئات العضوية، تحتوى الخلايا أيضا على جزيئات عضوية صغيرة التى تمثل مركبات أيض وسيطة أو جزيئات لها نشاط بيولوجى متخصص مثل المرافقات الانزيمية، كما تحتوى كل الخلايا على كميات قليلة من أيونات غير عضوية.

يختلف التركيب والخواص والوظائف البيولوجية للأقسام الأربعة الكبرى من المركبات العضوية السابق ذكرها اختلافاً جوهرياً. وهذا الاختلاف هو الذى ينشئ الخصائص الفريده للكائنات الحية.

فى هذا الجزء من الكتاب سنقوم بعرض لتركيب وخواص ووظيفة المكونات الكيميائية الرئيسية للخلايا، وكذلك توزيعها المكانى فى الأجزاء المختلفة من الخلية وفى الكائن وانعكاس هذا التوزيع على الوظائف المتخصصة لأنواع الخلايا.

obeikandl.com

فصل ١

الأساس الجزيئى لتركيب ووظيفة الخلية

The Molecular Basis of cell Structure And Function

استخدم الاصطلاح كائن حى Organism لتمييز أشياء مختلفة مثل الأشجار والحشرات والطيور والديدان والأسماك والإنسان. وتشترك هذه الكائنات فى صفات عامة تميزها عن المادة غير الحية. ماهى إذن الخواص التى تميز الكائنات الحية عن الأجسام غير الحية ؟.

الكائنات الحية لها عدة خصائص مميزة

تتميز الكائنات الحية بالمقدرة على التكرار الذاتى Self replication والطفرة mutation وهى الخاصية التى يمكن إعتبارها أهم خصائص الحالة الحية. فالتكرار الذاتى يوفر وسيلة تكوين أجيال جديدة للكائن، بينما الطفرة تسمح للكائن بالتطور تحت ضغط الإنتخاب الطبيعى natural selection وذلك بتكوين صور اكثر تنافساً للطاقة والغذاء.

الخاصية الثانية للانظمة الحية أنها أنظمة معقدة وعلى درجة كبيرة من التنظيم. فالخلايا المكوِّنة لهذه الأنظمة تحتوى على عدد كبير من الجزيئات المركّبة التى توجد فى تنظيم مكانى ووظيفى فريد، وبالمقارنة فإن المادة غير الحية المنتشرة حولنا والتى تتمثل فى التربة والصخور غالبا ما تتكوّن من خليط عشوائى من المواد الكيميائية البسيطةوالتى تحتوى نسبيا على درجة منخفضة من التنظيم.

وثالثا فإن كل جزء من أجزاء الكائن الحى يظهر وأن له وظيفة متخصصة، وهذا حقيقى ليس فقط بالنسبة للتركيبات المرئية مثل الأجنحةوالعيون والأزهار والأوراق

والبذور بل أيضا بالنسبة للتركيب الداخلى للخلايا مثل النواه والأغشية الخلوية والريبوسوم. بالإضافة إلى ذلك فإن كل مجموعة من المواد الكيميائية مثل الليبيدات والبروتينات والأحماض النووية لها أيضا وظائف متخصصة. وأخيرا فإن الكائنات الحية لها القدرة على استخلاص الطاقة من البيئة المحيطة وتحويلها إلى صورة مناسبة لاستخدامها فى عمليات البناء والمحافظة على تركيبها الداخلى. وبالمقارنة فإن المادة غير الحية ليس لها القدرة على الاستفادة من الطاقة الخارجية، وفى الحقيقة فإن المادة غير الحية تنحل إلى حالة ذات عشوائية أكبر عند امتصاصها لطاقة خارجية سواء فى صورة حرارة أو ضوء.

التركيب العنصرى للمادة الحية يختلف عن المادة غير الحية

يختلف التركيب العنصرى للمادة الحية عن التركيب العنصرى للمادة غير الحية، ومن الواضح أن بعض العناصر الكيميائية تكون ملائمة لتكوين جزيئات الكائنات الحية دون العناصر الأخرى. فمن بين ٩٢ عنصراً كيميائياً تنتشر فى القشرة الأرضية فإن ٢٧ عنصراً فقط وجدت أنها عناصر مهمة فى الكائنات الحية المختلفة (جدول ١ ـ ١). بالإضافة إلى ذلك فإن أربعة عناصر وهى الهيدروجين والاكسجين والكربون والنتروجين تشكّل اكثر من ٩٩٪ من كتلة معظم الخلايا الحية. وبذلك فإنه يمكن الإفتراض أن المركبات التى تتكون من إرتباط هذه العناصر الأربعة لها ملائمة فريدة فى بناء الجزيئات البيولوجية، فتتفاعل هذه العناصر الأربعة مع بعضها بالمشاركة الالكترونية مُكونة عدداً كبيراً من المركبات العضوية. كما أن ثلاثة من هذه العناصر (الكربون والنتروجين والاكسجين) لها القدرة على المشاركة بالكترون واحدا أو اثنين مكونه روابط فردية أو مزدوجة على التوالى.

ولذرات الكربون خاصية أخرى هى قُدرتها على الارتباط مع ذرة كربون أو أكثر مُكوِّنه سلسلة كربونية خطيه أو متفرعه أو حلقيَّة لعدد كبير من الجزيئات العضوية. ونظرا لقدرة ذرات الكربون على تكوين روابط تساهميه مع الهيدروجين والاكسجين والنتروجين والكبريت وغيرها من الذرات، فإنه يمكن إدخال عدد كبير من المجموعات الكيميائية الفعّاله فى الجزيئات البيولوجية.

جدول ١-١

العناصر المكونه للأنظمة الحية

العناصر المكونه للروابط التساهمية		الحديد	Fe
(كل الكائنات)		النحاس	Cu
الهيدروجين	H	الزنك	Zn
الاكسجين	O	الكوبلت	Co
الكربون	C	**العناصر النادرة (بعض الكائنات)**	
النتروجين	N	اليود	I
الفوسفـور	P	المولييدنيم	Mo
الكبريـت	S	الفاناديم	V
العناصر التى توجد فى صورة أيونيه		النيكل	Ni
(كل الكائنات)		الكروميوم	Cr
الصوديوم	Na^{+}	الفلور	F
البوتاسيوم	K^{+}	السلينيوم	Se
المغنسيوم	Mg^{2+}	السليكون	Si
الكالسيوم	Ca^{2+}	القصدير	Sn
الكلور	Cl^{-}	البورون	B
العناصر النادرة (كل الكائنات)		الزرنيخ	As
المنجنيز	Mn		

والاكسجين (O_2) يذوب فى الماء وبذلك يكون متاحا لكل الكائنات. بالإضافة إلى ذلك فإنه يُمثل العنصر الثالث (بعد الفلور والكلور) من ناحية المقدرة على استقبال الالكترونات، وعلى ذلك فإن نقل الالكترونات من معظم الجزيئات الأخرى إلى O_2 يُولِّد طاقة، وتعرف هذه العملية بالتنفس والتى توفر معظم الطاقة للخلايا التى لا تقوم بعملية البناء الضوئى.

obeikandl.com

الروابط التى تتكون بواسطة الفوسفور أو الكبريت غالبا ما تكون غير ثابتة فى وجود الماء، ولذلك فإن تكوين هذه الروابط يحتاج إلى إضافة كمية كبيرة من الطاقه. ونظرا لأن هذه الطاقة تتحرر من هذه الروابط عند تفككها فإن الجزيئات التى تحتوى على الفوسفور مثل الادينوزين ثلاثى الفوسفات ATP ، والتى تحتوى على الكبريت مثل أسيتايل مرافق إنزيمى A تكون مناسبة لدورها كحاملات للطاقة فى الأنظمة الحية.

الأيونات أحادية الذرة مثل Na^+ و K^+ و Ca^{2+} و Mg^{2+} تقوم بوظائف غير متخصصة نسبيا فى الكائنات مثل المحافظة على الإتزان الاسموزى وتكوين متدرج أيونى فى عملية الإتصال العصبى والإنتقال النشط ومعادلة الشحنات على الجزيئات الكبيرة.

بالإضافة إلى ذلك فإن بعض العناصر النادرة قد أُختيرت بدون شك نظرا لخواصها الالكترونية المميزة، مثال ذلك الحديد والنحاس والتى يمكن أن توجد فى أحدى صورتى تاكسدها الاثنتين. هذه العناصر تكون مناسبه للدور الذى تقوم به فى المراكز النشطة للبروتينات التى تقوم باستقبال ونقل الالكترونات مثل السيتوكرومات.

الأقسام الرئيسية للجزيئات البيولوجية فى الخلايا عبارة عن جزيئات كبيرة

معظم المواد التى توجد فى الكائنات الحية هى مركبات عضوية للكربون، والتى ترتبط فيها ذرات الكربون تساهميا مع ذرات أخرى من الكربون أو الهيدروجين أو الأكسجين أو النتروجين. والمركبات العضوية فى المادة الحية توجد منها أنـواع عديدة، بالإضافة إلى ذلك فإن الجزء الاكبر منها عبارة عن جزيئات كبيرة macromolecules ، مثال ذلك خلية بكتريا القولون E.coli وهى أصغر وأبسط الخلايا تحتوى على عدد كبير من الجزيئات العضوية المختلفة (جدول ١ ـ ٢). فتحتوى الخلية الفردية من بكتريا القولون E.coli على ما يقرب من ٥٠٠٠ نوع مختلف من المركبات العضوية بخلاف الماء وبعض الأيونات غير العضوية. ويعتبر الماء اكثر المركبات انتشاراً ليس فقط فى بكتريا القولون ولكن فى كل أنواع الخلايا والكائنات. من ناحية أخرى فإن الأيونات غير العضوية تشكّل جزءاً صغيراً من المادة الصلبة.

جدول ١ - ٢

أنواع الجزيئات البيولوجية فى بكتريا القولون E.coli

	٪من الوزن الكلى	العدد التقريبى لأنواع الجزيئات
المـــاء	٧٠	١
البروتينات	١٥	٣٠٠٠
الأحماض النووية		
DNA	١	١
RNA	٦	١٠٠٠
عديدات السكر	٣	٥
الليبيدات	٢	٢٠
الوحدات البنائية		
والمركبات الوسيطة	٢	٥٠٠
الأيونات غير العضوية	١	٢٠

كل المادة الصلبة تقريبا فى خلية بكتريا القولون وفى كل أنواع الخلايا هى مركبات عضوية والتى توجد فى أربع صور: البروتينات proteins والأحماض النووية nucleic acids وعديدات السُكّر polysaccharides والليبيدات lipids. تُشكّل البروتينات الجزء الاكبر من الماده الحية ليس فقط فى خلايا بكتريا القولون ولكن فى كل أنواع الخلايا، والبروتينات هى النواتج المباشرة للنشاط الجينى فى كل صور الحياة. تؤدى البروتينات وظائف متعددة، فعدد كبير منها يقوم بنشاط حفزى مثل الإنزيمات والبعض الآخر يعمل كعناصر بنائية فى الخلايا والأنسجة. كما توجد بعض البروتينات فى الاغشيه الخلويه حيث تحفز نقل بعض المواد إلى داخل أو خارج الخلية. الأحماض النووية التى تشمل حمض دى اوكسى ريبو نيوكلييك deoxyribonucleic acid (DNA) وحمض ريبونيو كلييك ribonucleic acid (RNA) تقوم بنفس الوظيفة فى كل الخلايا وهى تخزين ونقل وترجمة المعلومات الوراثية. فبينما يستخدم DNA فى

تخزين المعلومات الوراثية، فإن الأنواع المختلفة من RNA تساعد فى ترجمة هذه المعلومات إلى بروتين.

عديدات السُكَّر تقوم بوظيفتين أساسيتين فى جميع الخلايا. بعضها مثل النشا تُستخدم كصورة مُخزَّنه للطاقة، أما البعض الأخر مثل السليلوز يعمل كعنصر تركيبى خارج الخلايا. الليبيدات تقوم أيضا بوظيفتين فى جميع الخلايا إما كعناصر بنائية فى الأغشية الخلوية أوكصورة مُخزَّنة للطاقة.

تشترك البروتينات والأحماض النووية وعديدات السُكَّر فى خاصية عامة وهى كبر وزنها الجزيئى ولذلك يطلق عليها جزيئات كبيرة. فالوزن الجزيئى للبروتينات يتراوح ما بين ٥٠٠٠ إلى أكثر من مليون، وعديدات السكر مثل النشا قد يصل وزنها الجزيئى إلى عدَّة ملايين، أما الأنواع المختلفة من الأحماض النووية فوزنها الجزيئى كبير جداً قد يصل إلى البليون. جزيئات الليبيدات من ناحية أخرى، وزنها الجزيئى صغير فى المدى من ٧٥٠ إلى ١٥٠٠ ولذلك لا توضع ضمن الجزيئات الكبيرة.

الوزن الجزيئى والدالتون Dalton

الكتل الذرية والجزيئية تنسب إلى كتلة نظير الكربون ١٢ (12C) والذى عرفت كتلته الذرية بـ ١٢ وحدة. والكتلة الحقيقيه للذرة تساوى ١٢ دالتون Dalton وعلى ذلك فإن الدالتون الواحد يساوى $١,٦٦١ \times ١٠^{-٢٤}$ جرام. كتلة الجزيئات يمكن أن تعطى بالدالتون وتساوى عدديا الوزن الجزيئى Molecular Weighl (MW) مع ذلك فإن الوزن الجزيئى يشير إلى الكتلة المولارية (جرام لكل موال) ولذلك من الخطأ استخدام الدالتون كوحدة للوزن الجزيئى. والدالتون يكون اكثر فائدة فى الاستخدام فى التركيبات مثل الكروموسومات والريبوسومات والميتوكوندريا والفيروسات والخلايا، بينما لا يكون مناسب استخدام الوزن الجزيئى فى هذه الحالة.

الجزيئات البيولوجية الكبيرة مبلمرات تُبنى من عدد صغير من الوحدات البنائية

بالرغم من أن الكائنات الحية تحتوى على عدد كبير من الجزيئات البيولوجية الكبيرة والتى تتمثل فى الأعداد الكبيرة جداً من البروتينات والأحماض النووية، فهناك بعض القواعد التى تشكّل أساساً لتبسيط تركيبها. فالجزيئات البيولوجية الكبيرة عبارة عن مُبلمرات polymers تُبنى من عدد صغير من الوحدات البنائية building block، بالإضافة إلى ذلك فإن كل الكائنات الحية تستخدم نفس الوحدات البنائية فى تكوين الجزيئات الكبيرة. فالبروتينات فى كل أنواع الكائنات تُبنى فقط من عشرين حمض أمينى مختلف والتى تنتظم فى تتابع خطى مختلف لتكوّن سلاسل طويلة. وبنفس الطريقة فإن الأحماض النووية فى كل الكائنات الحية تُبنى من ثمانية أنواع مختلفة من النيوكليوتيدات والتى تنتظم فى تتابع مختلف. تشترك البروتينات والأحماض النووية فى خاصية هامة وهى أنهما جزيئات كبيرة حاويه للمعلومات informational macromol-ecules ، فكل بروتين وحمض نووى يحتوى على معلومات متضمنه فى تتابع الوحدات البنائية.

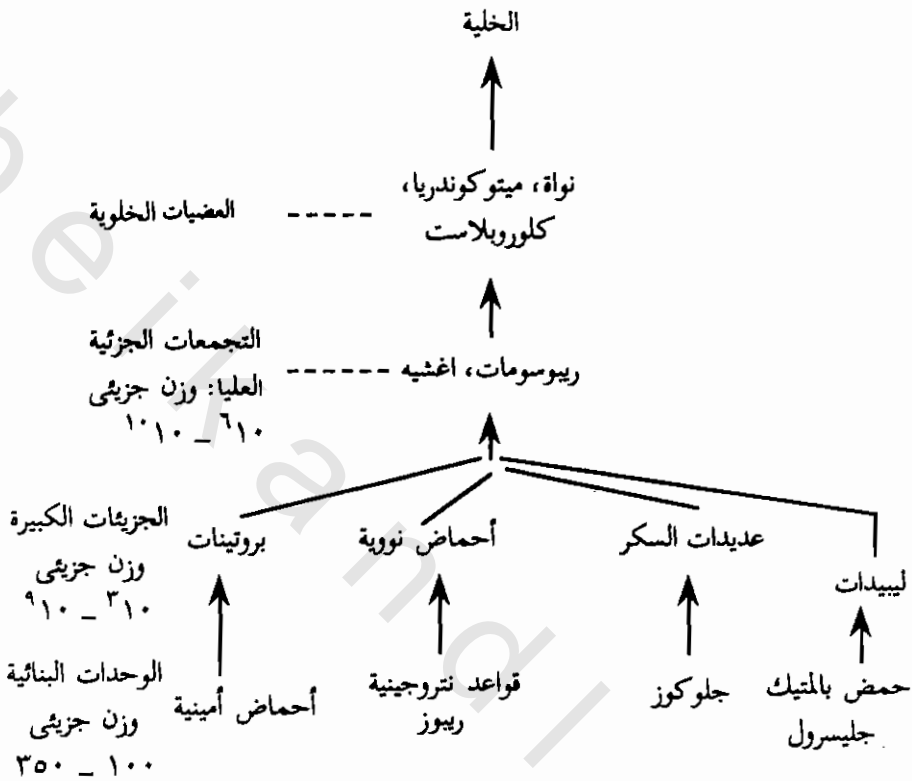
تُبنى عديدات السُّكّر من أنواع محدوده من الوحدات البنائية، مثال ذلك النشا والسليلوز تتألف من سلاسل طويلة تحتوى على نوع واحد من الوحدات البنائية وهو الجلوكوز. تُبنى الليبيدات أيضا من عدد قليل نسبيا من الوحدات البنائية، فتحتوى معظم الليبيدات على واحد أو اثنين أو ثلاثة أحماض دهنية طويلة السلسلة والتى يُمثل حمض البالمتيك وحمض الأوليك أهمها. عدد كبير من الليبيدات يحتوى أيضا على كحول الجليسرول والبعض يحتوى على حمض الفوسفوريك.

المبلمرات البيولوجية لها خاصيتين عامتين: الأولى، أنها تحتوى عادة على نوع واحد أو نوعين من الروابط التى تربط الوحدات البنائية بعضها ببعض، وعلى ذلك فإن ابتنائها يكون بسيطا حيث يتم بواسطة إنزيم واحد أو عدد قليل من الإنزيمات مع وجود ميكانيكية إضافية عندما يكون من الضرورى تحديد تتابع الوحدات البنائية. وثانيا، فإن

تكوين الروابط بين الوحدات البنائية فى المبلمرات البيولوجية يتم بفقد جزيئات الماء وهو التفاعل الذى يستهلك طاقة بينما تفككها يتم باضافة جزيئات الماء مع انفراد الطاقة، ولذلك فإن التفاعل الأخير هو المفضّل لكنه لا يتم بمعدل محسوس فى عدم وجود العامل الحفّاز. لذلك فإن المبلمرات البيولوجية تكون ثابتة من الناحية الحركية ولكنها ليست ثابتة ثرموديناميكيا.

التدرج التركيبى للتنظيم الجزيئى للخلايا

من الواضح أن هناك تدرجًا بنائيا فى التنظيم الجزيئى للخلايا، فقد أوضحنا فى الفقرة السابقة كيف ترتبط الوحدات البنائية لتكوّن الجزيئات البيولوجية الكبيرة. والوحدات البنائية تعتبر صغيرة بالمقارنة بالجزيئات البيولوجية الكبيرة، مثال ذلك الحمض الأمينى ألآنين يكون طوله أقل من ٧ أنجستروم، بينما بروتين الهيموجلوبين وهو البروتين الحامل للاكسجين فى خلايا الدم الحمراء يتألف من حوالى ٦٠٠ حمض أمينى فى هيئة سلسلة طويلة تنطوى حول نفسها مكونه شكل كُرِّى يبلغ قطره ٦٥ أنجستروم. تتحد الجزيئات البيولوجية الكبيره من الأنواع المختلفة لتكوّن تجمعات جزيئية عليا supramo-lecular assembeies مثل الريبوسومات ribosomes، وهى تجمعات حزيئية من البروتينات والأحماض النووية. إرتباط الجزيئات الكبيره فى التجمعات الجزيئية العليا لا يتم بواسطة الروابط التساهمية ولكن بواسطة قوى ضعيفة غير تساهمية مثل التداخلات الالكتروستاتيكة والتداخلات الكارهه للماء والروابط الهيدروجينية وقوى ڤان ديرفالس. إتحاد التجمعات الجزيئية العليا مع بعضها يؤدى إلى تكوين العضيات الخلوية cell orga-nells مثل النواه والميتوكوندريا والكلوروبلاست وغيرها (شكل ١ ـ ١).



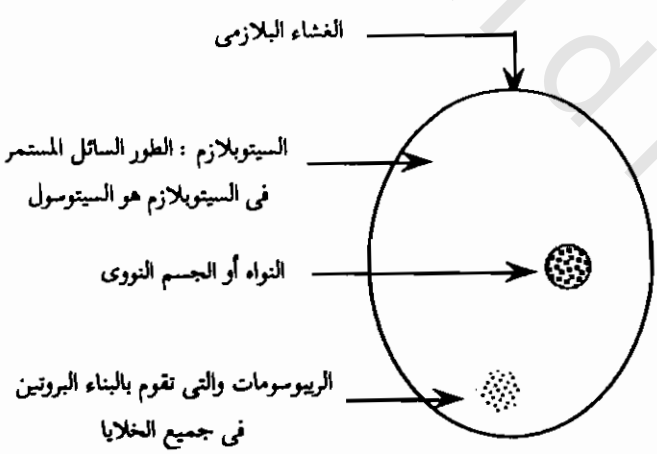
شكل ١ ـ ١
التدرج التركيبى للتنظيم الجزيئى للخلايا

بالرغم من ان الوحدات البنائية تعتبر صغيرة جداً بالنسبة للخلايا وعُضيّاتها فإنها قد تؤثر على شكل ووظيفة هذه التجمعات الجزيئية الكبيره. مثال ذلك مرض أنيميا الخلايا المنجلية sickle cell anemia الوراثى والذى يكون فيه جزئ الهيموجلوبين الحامل للاكسجين فى خلايا الدم الحمراء غير نشط يرجع إلى الإندماج غير الطبيعى لاثنين من الأحماض الأمينية فى الهيموجلوبين الذى يحتوى تقريبا على ٦٠٠ حمض أمينى.

الخلية هى الوحده البنائية والوظيفية للكائنات الحية

تتكون كل الكائنات الحيه من الخلايا ـ وهى حجيرات صغيره يحدها من الخارج غشاء ومملوءه بمحلول مائى مركز يحتوى على العناصر الكيميائية المختلفة. وأبسط الكائنات الحية مثل البكتريا تتكون من خليه واحده، والكائنات الراقية مثل الإنسان تحتوى على عدد كبير جداً من الخلايا (حوالى ١٤١٠ خلية فى الشخص الواحد) التى تتجمع فى مجموعات مختلفة من الخلايا (أنسجة) يقوم كل منها بوظيفة متخصصة وترتبط ببعضها بواسطة نظام إتصال مركّب. فالخلية بذلك تشكّل الوحده البيولوجية أو الوحده البنائيه والوظيفية للكائنات الحية.

توجد أنواع مختلفة من الخلايا التى تختلف بدرجة كبيرة فى الحجم والشكل والوظيفة، وبالرغم من هذه الاختلافات فإن الخلايا المختلفة تتشابه فى التركيب الأساسى (شكل ١ ـ ٢). فتحاط كل خليه من الخارج بغشاء رقيق الذى يجعلها مستقلة فى



شكل ١ ـ ٢

تحتوى جميع الخلايا على غشاء بلازمى وسيتوبلازم وريبوسومات ونواه أو جسم نووى. وسنرى فيما بعد أن هناك نوعين من الخلايا التى تختلف فيما بينها فى محتوياتها من بعض الجسيمات (العضّيات) الأخرى.

محتوياتها ومكتفية ذاتيا وذلك بفصل الخلية عن الوسط المحيط. هذا الغشاء الذى يعرف بغشاء الخلية أو الغشاء البلازمى يتميز بنفاذيه انتقائيه فيسمح بدخول المواد والأملاح التى تحتاجها الخلية ولكنه فى نفس الوقت يستبعد دخول المواد غير المرغوبة وذلك لاحتواء هذه الأغشية على فتحات (بوابات) وانظمه نقل خاصة. وتقوم الاغشية البلازمية فى كل الخلايا بنفس الوظيفة كما أنها تتشابه فى تركيبها حيث تتألف من الليبيدات والبروتينات.

يُحيط الغشاء البلازمى بالسيتوبلازم الذى يتم فيه معظم التفاعلات الكيميائية، وينغمر فى السيتوبلازم عدد من العضّيات (الجسيمات) الخلوية التى تشمل الريبوسومات والتى توجد فى جميع الخلايا حيث تشارك فى بناء البروتين. كما تحتوى جميع الخلايا أيضا إمّا على نواه أو جسم نووى الذى يتم فيه تخزين وتكرر الماده الوراثيه.

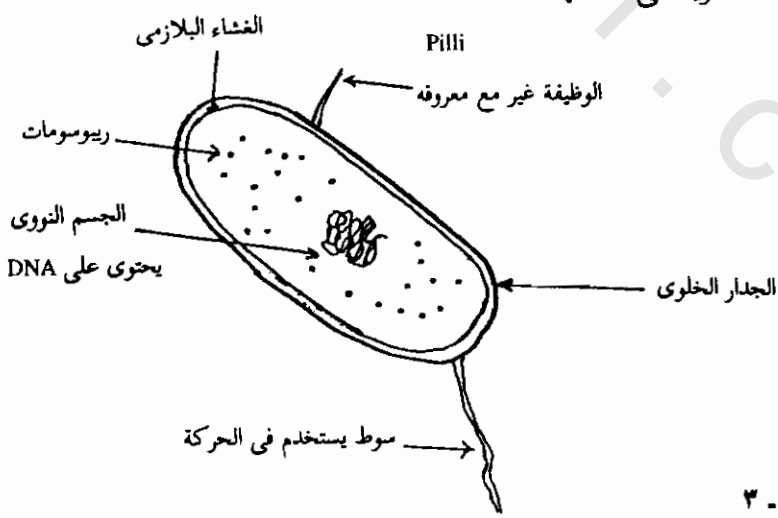
بالإضافة إلى هذه العضّيات يوجد عدد آخر من العضّيات الأخرى التى يقتصر وجودها على نوع معين من الخلايا. فالميتوكوندريا وهى أنظمة توليد الطاقة توجد فى كل الخلايا الهوائية، والكلوروبلاست التى يتم فيها عملية البناء الضوئى يقتصر وجودها على النباتات الخضراء. أما الفجوات العصاريه فتوجد فى معظم الخلايا النباتية حيث تستخدم فى نقل وتخزين المواد المغذّية والأيضات ومخلفات الأيض. وبينما تحتوى الخلايا الحيوانية على غطاء (غلاف) خلوى cell coat يتألف من معقد البروتين وعديدات السُكّر والذى يحيط بالغشاء البلازمى من الخارج، فإن خلايا النباتات وخلايا عدد كبير من الطحالب يحاط غشائها البلازمى بطبقة صلبة تتألف أساساً من السليلوز يطلق عليها جدار الخلية cell wall. خلايا البكتريا الحقيقية والطحالب تحاط أيضا بجدار صلب ولكنه يتكون من عديدات سُكّر غير السليلوز.

يوجد قسمان رئيسيان من الخلايا: الخلايا أوليه النواه والخلايا مميزه النواه

فى عام ١٩٥٧ اقترح دوفرتى Dougherty استخدام الاصطلاحان غير مميزه النواه (أولية النواة) procaryotes ومميزه النواه (حقيقية النواة) eucaryotes لوصف الخلايا، وهذان

الاصطلاحان شاع استخدامهما في الوقت الحاضر. تحتوى الخلايا أوليه النواة على أقل تنظيم داخلى ولا تحتوى على عضيات خلويه محاطة بأغشيه. بالإضافة إلى ذلك فإن المادة الوراثية فيها لاتحاط بغشاء نووى ولا يوجد DNA فيها مرتبطا مع الهستونات، وفى الحقيقة فإن الهستونات وهى بروتينات قاعديه لا توجد فى الخلايا غير مميزه النواه. الخلايا مميزه النواه من ناحية أخرى تحتوى على درجة كبيرة من التنظيم الداخلى وتحتوى على نواه مركبة تحاط بغشاء نووى مزدوج يوجد بداخلها DNA مرتبطا بالهستونات.

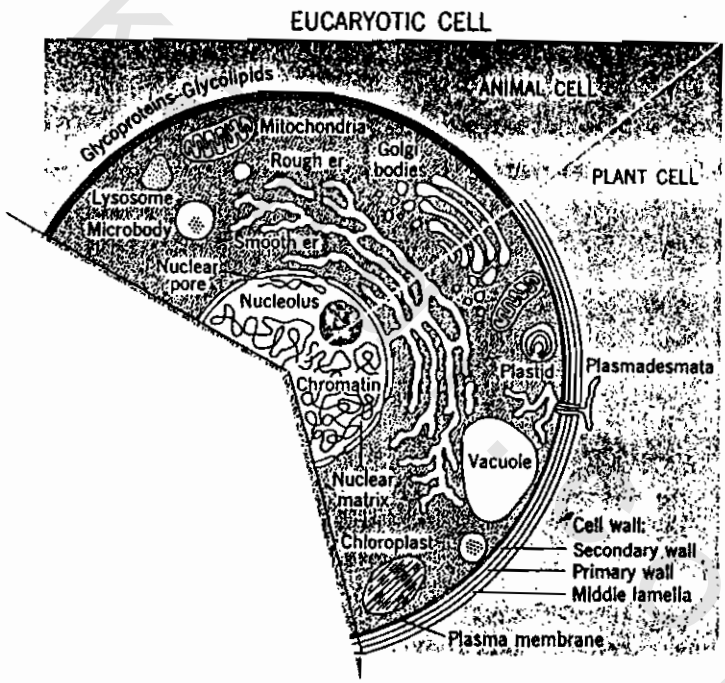
تشمل أوليه النواه على ما يقرب من ٣٠٠٠ نوع من البكتريا والتى تشمل الطحالب الخضراء المزرقة. وتعتبر البكتريا أبسط الكائنات وحيدة الخلية وتوجد فى معظم البيئات الطبيعية وتأخذ شكل كروى أو عصوى وغالبا ما تحتوى على جدار خلوى يحيط بالغشاء البلازمى (شكل ١ ـ ٣). تنقسم البكتريا بمعدل سريع إلى خليتين بالانقسام الثنائى. وبالرغم من بساطه تركيب البكتريا فإنها تقوم بعمليات كيميائية متعدده الأوجه، فتوجد بعض أنواع من البكتريا التى يمكن أن تستخدم أنواع مختلفه من الجزيئات العضوية كغذاء والبعض الآخر يمكن ان يستخدم CO_2 و N_2 كمصدر للكربون والنتروجين على التوالى. والبكتريا تقوم بعدد كبير من التفاعلات الكيميائية لتوليد الطاقة وابتناء كل الجزيئات العضوية التى تحتاجها.



شكل ١ ـ ٣

بكتريا القولون E.coli نموذج للخلايا أولية النواة

تتميز الخلايا مميزه النواه فى إحتوائها على نواه التى تحتوى على معظم جزيئات DNA فى الخلية. بالإضافة إلى ذلك فإن سيتوبلازم هذه الخلايا يحتوى على عدّه عُضيّات مميزة أكثرها أنتشاراً الميتوكوندريا والكلوروبلاست. وبينما تعتبر الميتوكوندريا أحد معالم الخلايا مميزه النواه فإن الكلوروبلاست يقتصر وجودها على الخلايا مميزه النواه التى لها القدرة على الابتناء الضوئى (شكل ١ ـ ٤).



شكل ١ ـ ٤
مقارنة للخلايا مميزة النواة فى الحيوان والنبات

الخلايا مميزة النواة تحتوى أيضا على أنظمه غنية بالأغشية وهى الشبكة الاندوبلازمية وأجهزة جولجى والليسوسومات. تشارك الشبكة الاندوبلازمية فى إبتناء الليبيدات والبروتينات وكذلك اخراج المواد المرغوب إفرازها خارج الخلية. أجهزة جولجى تشارك فى إبتناء ونقل الجزيئات العضوية المختلفة. الليسوسومات وهى عبارة عن حويصلات دقيقة محاطة بغشاء تخزن الانزيمات اللازمة لعمليات الهضم الداخلى وبذلك تحجب هذه الأنزيمات عن مهاجمة البروتينات والأحماض النووية للخلية ذاتها. بيروكسى سوم Per-oxisome حويصلات محاطة بغشاء تقوم بتكوين وهدم البيروكسيد فى الخلية الحيوانية النموذجية.

الخلايا مميزة النواه يمكن أن تنقسم لاجنسيا مثل الخلايا غير مميزة النواه ولكن يتم ذلك بعملية مركّبة نسبيا تُعرف بالانقسام الميتوزى mitosis . والخلية الجرثومية للكائنات مميزة النواه يمكن أن تدخل فى تزاوج جنسى مركّب يشتمل على تبادل الجينات.

خلايا الحيوانات الراقية والنباتات الراقية والفطريات هى خلايا مميزه النواه. ويوجد أيضا عدد من الكائنات وحيده الخليه ومميزه النواه التى تشمل أنواعاً متعدده من البروتوزوا والدياتومات والخميره والفطريات اللزجة.

الخلايا فى الكائنات متعدده الخلايا تصبح متخصصه ومتعاونه

الكائنات وحيده الخليه مثل البكتريا والحيوانات الأولية (بروتوزوا) قد نجحت فى التأقلم مع الظروف البيئية المختلفة، فتشكل هذه الكائنات اكثر من نصف الكتلة الحيه على الكره الأرضية. وبخلاف الحيوانات الراقيه فإن عدداً كبير من الكائنات وحيده الخلية يمكن أن تبنى كل المواد الضرورية لها من مواد أوليه بسيطة. ما هى إذن الميزه الانتخابية للكائنات متعدده الخلايا؟. الإجابة على ذلك هو أن الكائنات متعدده الخلايا يمكن ان تستخدم موارد لايمكن استخدامها بكفاءه بواسطة الكائنات وحيده الخلية. كما ان الكائنات متعدده الخلايا يمكن ان تقوم بأنشطة متعدده تتطلب تخصص وتعاون خلايا الكائن مع بعضها. فتظهر الخلايا فى الكائنات متعدده الخلايا خاصيتين أساسيتين هما

التخصص والتعاون، وبواسطة التخصص والتعاون تؤلف الخلايا المتحدة كائن متكامل له كفاءة مرتفعه فى النشاط والتفاعل مع البيئة.

معظم الكائنات متعددة الخلايا تتألف من مجموعة من الخلايا التى تنشأ من خلية واحده وهى البويضة المخصبة، أى أن خلايا الكائن متعدد الخلايا تكون متماثلة وراثيا ومع ذلك تختلف هذه الخلايا فى الشكل والوظيفة. ففى الحيوان مثلا تتخصص بعض الخلايا كعضلات والبعض الآخر كخلايا عصبية والبعض الآخر كخلايا دم وهكذا. وهذه الخلايا تحتوى على نفس الجينات، كيف ينشأ هذا الاختلاف فى الشكل والوظيفة والذى يعرف بتميز الخلية cell differentiation ؟. يتم تميز وتخصص الخلايا فى مرحلة الجنين، وفى عدد قليل جداً من الحالات يتم تخصص الخلية بفقد كلى أو جزئى للماده الوراثية، أحد الأمثلة لذلك هى خلايا الدم الحمراء فى الثدييات والتى تفقد النواه كليه أثناء فترة التميز. فى معظم أنواع النباتات والحيوانات من ناحية أخرى فإن تخصص الخلايا لا يعتمد على فقد أو اكتساب الجينات (المادة الوراثية) ولكنه يعتمد على تنظيم التعبير الجينى أى نشاط الجينات.

يعتبر الإتصال بين الخلايا فى الكائنات متعدده الخلايا من العوامل الأساسية فى تنظيم النشاط الأيضى وتنظيم النمو والانقسام. ويعتقد أن الإتصال بين الخلايا يتم بثلاثه طرق (١) افراز رسائل كيميائية بواسطة بعض الخلايا التى تنتقل إلى خلايا أخرى تستحث فيها نشاط معين (٢) الاتصال عن طريق جزيئات تتحرر من الغشاء البلازمى للخلية الذى يؤثر فى الخلية المجاوره و(٣) الاتصال عن طريق فجوات إتصال تربط بين سيتوبلازم الخليتين الملتحمتين.

التنظيم البيولوجى للخلايا يتم بتبادل الطاقة مع البيئة

الكائنات الحية على درجة كبيره من التنظيم والذى يظهر فى التركيبات الكبيره كالأعضاء المختلفة وفى التركيبات تحت الخلوية مثل الميتوكوندريا وفى شكل وتنظيم الجزيئات الكبيره. فالعدد الكبير من الذرات فى جزئ البروتين أو الحمض النووى قد أُشتقت من حالتها العشوائية فى البيئة والتى جـمـعت مع بعضها فى تركيب منتظم.

ويستمر التنظيم فى الخلايا النامية بصوره دائمه بإبتناء الجزيئات الكبيرة من الجزئيات الصغيرة، كما أنه يتم أيضا فى الخلايا غير المنقسمة وذلك بالمحافظة على تنظيمها بعمليات الاصلاح. كيف يتم ذلك من ناحية الحركة الحرارية مع أنه من المعروف أن القانون الثانى للحركة الحرارية ينص على أن كمية التنظيم فى الكون تنخفض دائما. فالاشياء إذا تركت لذاتها مثل الكائنات بعد موتها تصبح أقل تنظيما واكثر عشوائية. لذلك فإن زيادة التنظيم فى الخلايا الحية يجب أن يقابله إنخفاض فى تنظيم بقية الكون، والذى يتم بتحرير حراره من الخلايا باستمرار إلى الوسط المحيط. والحراره هى طاقة فى صوره اضطراب عشوائى للجزيئات، وعلى ذلك فهى تمثل الطاقة فى اكثر صورها العشوائية. تحرير الحراره من الخلايا إلى الوسط المحيط يزيد اذن حركة الجزيئات فى الوسط المحيط ويزيد بذلك درجة عشوائيتها أو عدم تنظيمها.

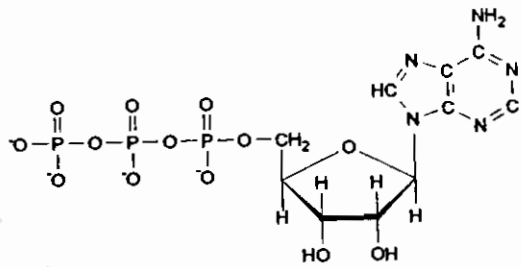
الفقد المستمر للحراره من الخلايا الحية الذى يمول إنشاء التنظيم البيولوجى يحتاج إلى إضافة مستمرة من الطاقة إلى الخلية، وهذه الطاقة يجب أن تكون فى صوره غير الحراره. فالنباتات تشتق هذه الطاقة من الأشعة الكهرومغناطيسية لضوء الشمس، بينما فى الحيوانات تشتق من الطاقة المخزنه فى الروابط الكيميائية فى المركبات العضوية التى تتحصل عليها من الغذاء، ولكن نظرا لأن هذه الجزيئات العضوية تبنى بواسطة كائنات الإبتناء الضوئى مثل النباتات، فإن الشمس تمثل المصدر الوحيد للطاقة لكل أنواع الكائنات. من ذلك يمكن القول أن الكائنات الحية تبنى وتحافظ على تنظيمها وتركيبها المعقد على حساب الطاقة المستخلصه من البيئة المحيطة، وفى نفس الوقت تصبح البيئة أقل تنظيماً واكثر عشوائيه بتحرير الحراره من الكائنات الحيه اليها.

تعتبر البيئة ضرورية للكائنات الحية بصوره مطلقه، ليس فقط كمصدر للطاقة ولكن أيضا كمصدر للمواد الأوليه. لذلك فإنه يمكن إعتبار الأنظمه الحيه نظام مفتوح لأنها تتبادل كل من الطاقه والمادة مع الوسط المحيط.

الكائنات الحيه تستخلص الطاقه وتخزنها وتنقلها فى صوره كيميائية

بالرغم من أن النباتات والحيوانات يتحصلان على الطاقة من البيئة فى صور مختلفه، فإن

كل منهما يُحوِّلها إلى طاقة كيميائية أساساً فى صوه أدينوزين ثلاثى الفوسفات adeno-sine triphosphate (ATP) (شكل ١ ـ ٥)، وعلى ذلك فإن الخلايا الحيه تخزن

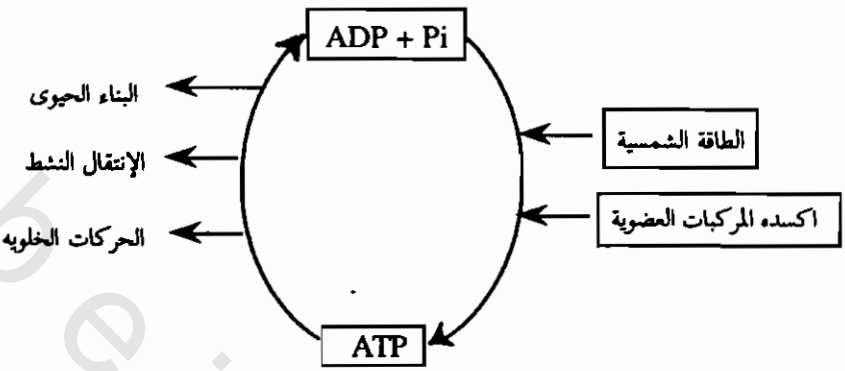


شكل ١ ـ ٥

الادينوزين ثلاثى الفوسفات ATP ، الحامل العام للطاقة الكيميائية فى الخلايا الحية

الطاقة وتنقلها فى صوره طاقة كيميائية. ويعمل الأدينوزين ثلاثى الفوسفات كحامل عام للطاقة الكيميائية فى خلايا جميع الكائنات الحيه وذلك لانه غير ثابت. يمكن للأدينوزين ثلاثى الفوسفات أن ينقل طاقتة إلى جزيئات بيولوجية أخرى، وفى هذا التحول فإن جزئ ATP يفقد مجموعة الفوسفات الطرفيه ويتحول إلى الأدينوزين ثنائى الفوسفات adenosine diphosphate (ADP) الذى تكون طاقته أقل من ATP . وجزئ ADP يمكن أن يتحول بدوره إلى ATP وذلك بارتباطه بمجموعه فوسفات باستخدام الطاقة الشمسيه فى خلايا البناء الضوئى أو من اكسده الجزيئات العضوية فى الخلايا التى لا تقوم بعمليه البناء الضوئى (شكل ١ ـ ٦).

بذلك يعمل الادينوزين ثلاثى الفوسفات كمركب وسيط أو أداة إرتباط بين شبكتين من التفاعلات الكيميائية فى الخلايا. أحد هذه الشبكات هو حفظ الطاقه المشتقه من البيئة وذلك بفسفره ADP إلى ATP ، أما الشبكة الأخرى فتشمل العمليات المستخدمه لطاقه ATP وهى بناء العناصر الخلويه من المواد الأولية البسيطه وإنقباض العضلات والحركات الخلوية والنقل النشط خلال الأغشية الخلوية. وهذه العمليات الثلاثة تمثل جزء مهم فى إنشاء التنظيم البيولوجى للكائنات الحيه.

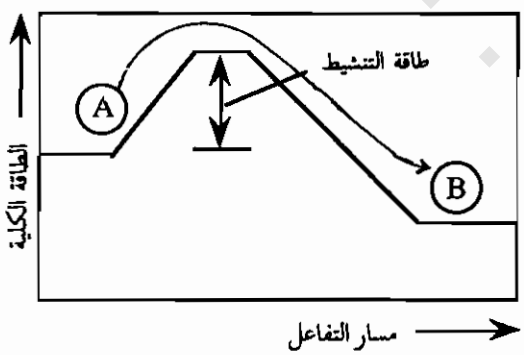


شكل ١ ـ ٦

الادينوزين ثلاثى الفوسفات ATP هو الحامل العام للطاقة الكيميائية فى الخلايا الحيه والذى يربط بين مصادر الطاقه والعمليات المستهلكه للطاقة

الانزيمات وهى عوامل الحفز البيولوجية تُعجِّل سرعه التفاعلات الكيميائية فى الخلايا

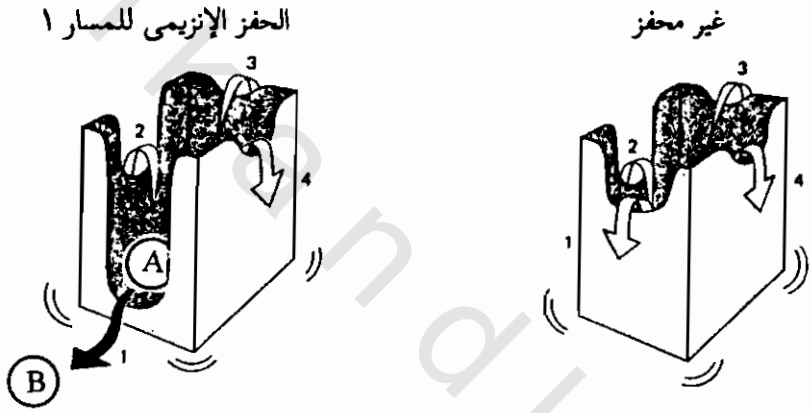
نادرا ما تتم التفاعلات الكيميائية فى الأنظمه البيولوجية بصوره تلقائيه وذلك لوجود حاجز حركى أو حاجز طاقه التنشيط (شكل ١ ـ ٧). وتتغلب الخلايا الحيه على حاجز



شكل ١ ـ ٧

مخطط بيانى يوضح أساس طاقة التنشيط. بالرغم من أن المركب A يمكن أن ينتقل إلى حالة طاقة اقل وثابته بتحوله الى المركب B ، فان هذا الانتقال لايتم إلا اذ حصل المركب A على طاقة تنشيط كافيه ليدخل فى التفاعل.

طاقه التنشيط بواسطه عوامل حفّازه بيولوجية، هذه العوامل الحفازه عباره عن بروتينات متخصصه يطلق عليها الانزيمات enzymes ، ومن أهم خصائص الإنزيمات قوة الحفز الكبيره والتخصص. فترتبط الإنزيمات بالجزيئات البيولوجية بطريقه تُمكّنها من خفض طاقة التنشيط للتفاعلات الخاصة التى يمكن للجزئ المرتبط أن يدخل فيها. وبالخفض الاختيارى لطاقة التنشيط لأحد المسارات أو غيره، تحدد الإنزيمات أى مسارات التفاعل يمكن أن يدخل فيها الجزئ (شكل ١ ـ ٨)، وبهذه الطريقة فإن جزئيات الخلية المختلفة توجه فى مسار تفاعل معين.



شكل ١ ـ ٨

مخطط بيانى يوضح كيف تُوجّه الإنزيمات الجزيئات خلال مسار التفاعل المرغوب. فى هذا النموذج تمثل الكرتان A و B ماده التفاعل وناتج التفاعل، بينما الجدر الاربعه للصندوق تمثل حواجز طاقة التنشيط لأربعه من التفاعلات المختلفة التى يمكن أن يدخل فيها المركب A. فى الصندوق الموجود على اليمين لا يحدث أى من هذه التفاعلات نتيجة لوجود حاجز طاقة التنشيط. فى الصندوق الموجود على اليسار فإن الحفز الانزيمى يخفض طاقة التنشيط فقط للتفاعل رقم ١ وبذلك يسمح لهذا التفاعل بالحدوث.

نجاح الكائنات الحية فى تنفيذ التحولات الكيميائية يرجع أساسا إلى مقدره الخلايا فى بناء عدد كبير من الانزيمات المتخصصه. وكل انزيم عباره عن بروتين له هيئه ثلاثيه الأبعاد والذى يحتوى على مركز نشط active center له المقدره على الارتباط مع

مجموعه من الجزيئات (المواد الخاضعه للتأثير الانزيمى أو مواد التفاعل substrates). ويرتبط الإنزيم مع المادة الخاضعة لتأثيره بحيث يعجّل سرعه أحد التفاعلات من بين التفاعلات العديده التى يمكن أن تدخل فيها الماده الخاضعة.

بعض مسارات التفاعل التى تحفز بالإنزيمات تقوم بتفكيك المركبات العضويه الكبيره إلى جزيئات صغيرة بغرض إستخلاص الطاقة الكيميائية. والبعض الآخر يبدأ بجزيئات بسيطة ويبنى منها الجزيئات البيولوجية الكبيرة باستخدام الطاقة الكيميائيه. هذه المسارات المختلفه من التفاعلات الكيميائية تمثل أيض الخلايا cell metabolism.

أيض الخلايا يُنظّم بكيفيات مختلفة

الخلية الحيه والتى يبلغ قطرها أقل من ١, ميلليمتر تقوم بتنفيذ عدد كبير من التفاعلات الكيميائية . فتقوم الخليه فى نفس الوقت ببناء آلاف الجزيئات البيولوجية المختلفة وبالمعدّل المناسب لعمل ونمو الخليه، وهى فى نفس الوقت تقوم بهدم الجزيئات العضوية لتوفير الطاقة اللازمة لعمليات البناء. بالإضافة إلى ذلك فإن كل تفاعل يحتاج إلى إنزيم مختلف وهو بذاته ناتج لسلسه كبيره من نقل المعلومات وتفاعلات بناء البروتين، مع ذلك فإن الخليه على درجة كبيره من الثبات. من ذلك يتضح أن الخلايا الحيه يجب أن تحتوى على كيفيات حساسه لضمان تكامل وربط وتنظيم عمليات الأيض. وفى الحقيقة فإن الخلايا تحتوى على وسائل تحكم لتنظيم الأيض والتى تشمل (١) فصل مواقع تواجد الإنزيمات فى الخليه (٢) التحكم فى نشاط وتركيز الإنزيمات (٣) التنظيم عن طريق فعل الهورمونات فى الكائنات الراقية.

الكائنات الحيه لها القدره على التكرار الذاتى بدقه فائقة

من أهم الخصائص المميزه للخلايا الحيه هو قدرتها على التكرار الذاتى self replication بدقه متناهيه لمئات وآلاف الأجيال. وللتكرار الذاتى ثلاثه خصائص عامة وهى: أولاً: أن المعلومات الوراثية مخزنه فى حمض دى اوكسى ريبونيوكلييك Deoxyribonucleic acid (DNA) فى صوره تتابع خطى محدد للنيوكليوتيدات المكونه لـ DNA ، وعلى

ذلك فإن المعلومات الوراثية تشتمل فى أبعاد تحت جزيئية. الخاصية الثانية هى درجة الثبات غير العادية للمعلومات الوراثية المخزنة فى DNA والتى ترجع إلى قاعدة التطابق التركيبى، فسلسلتى DNA يعملا كقالب للنسخ الإنزيمى لحمض DNA جديد. بالإضافة إلى ذلك فإن حدوث أى كسر أو إندماج خاطئ للقواعد فى DNA يتم إصلاحه بواسطة نظام إنزيمى خاص. والخاصية الثالثة هى أن المعلومات الوراثية التى تحمل بواسطة التتابع الخطى للنيوكليوتيدات التى ترتبط ببعضها بالروابط التساهميه فى جزئ DNA يتم التعبير عنها بواسطة الروابط غير التساهميه فى جزيئات البروتين. وهذه الروابط غير التساهمية الضعيفة قد تنشأ بين أجزاء مختلفة فى نفس الجزئ، أو بين الجزيئات المختلفة، وبذلك فهى تحدد التركيب ثلاثى الأبعاد لسلاسل البروتينات ونمط تفاعل هذه الجزيئات مع بعضها.

obeikandl.com

المراجع

Baker, J.J., and G.E. Allen: Matter, Energy, and Life, 4 th ed., Addison - Wesley, Reading, Mass., 1981.

Callewaret, D.M., and J. Genyea: Basic Chemistry : General, organic, Biological, Worth, New York, 1980.

Coon, E.E., P.K. Stumpf, G.Bruening, and R.H. Doi: outlines of Biochemistry, 5th ed., John Wiley & Sons, New York, 1987.

Dickeroson, R. E., and I. Geis: Chemistry, Matter, and the Universe, Benjamin, Menlo Park, Calif., 1976.

Frieden, E.: "The Chemical Element if Life," Scientific America, 227: 52 - 64, July (1972).

Lehninger, A.L.: Principles of Biochenistry, Worth, New York 1982.

Mohler, H.R., and E.H. Cordes: Biologicae Chemistry, 2 nd ed., Harper and Row, New York, 1971.

Orgel, L.: The origin of Life: Molecuees and Natural Selection, Wiley, New York, 1973.

Strayer, L.: Biochenistry, 2 dn ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Wood, W.B., J.H. wilson, R.M, Benbow and L.E. Hood: Biochemistry: A Problem Approach, Benjamin, Menlo Park Calif., 1974.

obeikandl.com

تمارين

١ ـ أجب عن الأسئلة التالية بصح أو خطأ. وإذا كانت الإجابة بخطأ فاشرح لماذا؟

(أ) العناصر الأربعة الأكثر انتشاراً فى الأنظمة الحية هى أيضا أكثر العناصر انتشاراً فى المادة غير الحية.

(ب) O ، N و C هى العناصر التى لها القدرة على تكوين روابط مزدوجة فى الأنظمة الحية.

(جـ) الاكسجين هو العنصر الثالث فى الترتيب من ناحية كونه مستقبل للالكترونات.

(د) معظم المبلمرات البيولوجية تكون ثابتة من الناحية الحرارية الحركية (الثرمودنياميكية).

(هـ) الادينوزين ثلاثى الفوسفات هو الحامل العام للطاقة فى الأنظمة الحية.

٢ ـ (أ) كل أنواع الجزيئات فى الكائنات الحية تقريبا تبنى من ..... نوع مختلف من الجزيئات الصغيرة.

(ب) الأقسام الأربعة المختلفة من الوحدات البنائية فى كل الكائنات الحية هى .....، .....، ..... و..... .

(جـ) الأحماض النووية مبلمرات من ..... .

(د) البروتينات مبلمرات من ..... .

٣ ـ (أ) ما هى الاختلافات بين الكائنات الحية والمادة غير الحية.

(ب) كيف تحافظ الكائنات الحية على تنظيمها الداخلى.

(جـ) ما هو الدور الذى تقوم به عوامل الحفز البيولوجية (الإنزيمات) فى التفاعلات البيوكيميائية.

obeikandl.com

فصل ٢

الماء

Water

يعتبر الماء أكثر المواد إنتشاراً فى الأنظمة الحية حيث يمثل ٧٠٪ أو أكثر من كتلة المادة الحية، فالماء يساهم إلى جانب غيره من المواد الأخرى كمركب أساسى فى تكوين البناء الداخلى الموحّد للخلية والذى يُعزى إليه ذلك التنظيم الدقيق للعمليات المميزة للأنظمة الحية.

بالرغم من أن الماء مركب ثابت كيميائيا إلا أن له خواص فريدة تميُّزه عن السوائل الأخرى. فمن المعروف الآن أن الماء وناتج تأينُّه H^+ و OH^- تحدد الخواص التركيبية والبيولوجية لعديد من العناصر الخلويه والتى تشمل البروتينات والأحماض النووية والأغشية الخلوية وغيرها. ونظرا لأن الماء يُمثّل الطور المستمر للأنظمة الحية فإنه يُشكّل الوسط الذى تنتقل خلاله نواتج الأيض والأيونات، وهو أيضا الوسط الذى تتم فيه التفاعلات البيولوجية وانتقال الطاقة الكيميائية. وبذلك يمكن تقييم وفهم الأهميه الكبيرة للماء فى عمليات النشاط الحيوى وقدرته على أن يُشكّل أساس الحياة.

الخواص الفيزيائية غير العادية للماء ترجع للروابط الهيدروجينية

للماء نقطة انصهار ونقطة غليان وحراره تبخير مرتفعه عن معظم السوائل الشائعة التى تشابه الماء إمّـا فى احتوائها على نفس عدد الالكترونات isoelectronic أو لأن لها

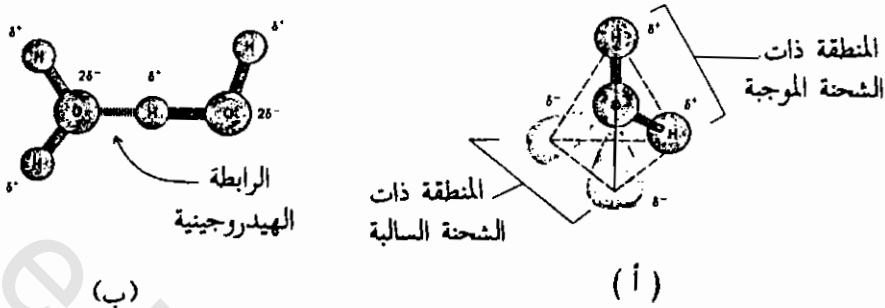
خواص إذابه جيده (جدول ٢ ـ ١). هذه الحقائق تشير إلى وجود قوى تجاذب كبيرة بين جزيئات الماء والتى تعطى الماء السائل قوى تماسك كبيره. مثال ذلك أن حراره التبخير تعتبر مقياس مباشر لكمية الطاقة اللازمة للتغلب على قوى التجاذب بين الجزيئات المتجاوره فى السائل وانفصالها ودخولها فى الحالة الغازية.

جدول ٢ ـ ١

بعض الخواص الفيزيائية للماء وبعض السوائل الشائعة الأخرى

المادة	نقطة الانصهار (م°)	نقطة الغليان (م°)	حراره التبخير (سعر/ جرام)
الماء	صفر	١٠٠	٥٤٠
إيثانول	١١٧_	٧٨	٢٠٤
أسيتون	٩٥_	٥٦	١٢٥
كلوروفورم	٦٣_	٦١	٥٩
الأمونيا	٧٨_	٣٣_	٣٢٧
كبريتيد هيدروجين	٨٣_	٦٠_	١٣٢

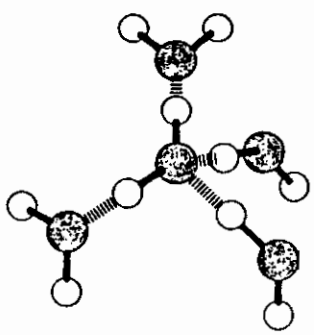
ترجع قوى التجاذب بين جزيئات الماء فى الحالة السائلة إلى التوزيع الالكترونى والبناء الفراغى لجزئ الماء. فنظرا لارتفاع كهروسالبيه electronegativity ذره الاكسجين فإنها تسحب الالكترونات بعيداً عن ذرات الهيدروجين تاركة شحنة جزئيه موجبه (δ^+)على ذرات الهيدروجين (شكل ٢ ـ ١). ونتيجة لهذا الاستقطاب فإن جزئ الماء يصبح جزيئاً كهربيًا ثنائى القطب (جزئ قطبى). ونتيجة لفصل الشحنات الكهربية على جزئ الماء، فإن الجزيئات سوف تنجذب إلى بعضها بواسطة القوى الكهروستاتيكية بحيث توجّـه ذرة الاكسجين السالبة فى أحد الجزيئات فى إتجاه ذره الهيدروجين الموجبة فى جزئ أخر. وهذا النوع من التجاذب الكهروستاتيكى يطلق عليه الرابطة الهيدروجينية (شكل ٢ ـ ١).



شكل ٢ ـ ١

التركيب والخواص الكهربية لجزئ الماء (أ) تركيب وتوزيع الشحنات الكهربية فى الجزئ (ب) الرابطة الهيدروجينية.

ونظرا للتوزيع الفراغى الخاص للالكترونات حول ذره الاكسجين والذى يأخذ شكل هرم رباعى القاعدة tetrahedral (شكل ٢ ـ ١)، فإنه من الناحية النظريه يكون لكل جزئ ماء القدره على تكوين أربع روابط هيدروجينيه مع أربع جزيئات مجاوره (شكل ٢ ـ ٢). ولكن لأن جزيئات الماء فى الحالة السائلة تكون فى حركة مستمره فإن الروابط الهيدروجينية تتفكك وتتكون بصوره مستمره، ويفسر ذلك إنخفاض لزوجة الماء. ولكن فى الثلج يكون كل جزئ ماء ثابتاً فى الفراغ مكونا أربع روابط هيروجينية مع أربع جزيئات أخرى لينتج نظامًا شبكيًا منتظما.



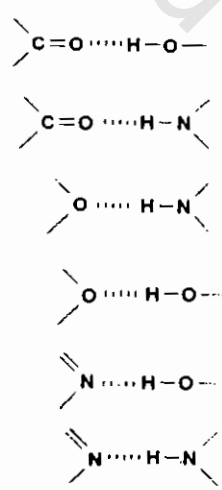
شكل ٢ ـ ٢

كل جزئ ماء له القدره على تكوين أربع روابط هيدروجينية مع أربع جزيئات ماء متجاوره

تعتبر الرابطة الهيدروجينية رابطة ضعيفة بالمقارنه بالربطه التساهميه، فطاقه الرابطه الهيدروجينيه فى الماء تقدر بحوالى ٤,٥ كيلو سعر / مول، بينما طاقة الرابطة O-H فى جزئ الماء تساوى ١١٠ كيلو سعر / مول، ومع ذلك ونظرا لأن عدد الروابط الهيدروجينيه كبير فإنها تمنح قوى تماسك داخليه كبيره للماء السائل.

الروابط الهيدروجينيه تنشأ أيضا داخل أو بين الجزئيات البيولوجية

لا يقتصر تكوين الروابط الهيدروجينيه على الماء ولكن من السهل تكوينها بين ذرات ذات كهروسالبيه مرتفعه مثل الاكسجين والنتروجين وذره هيدروجين ترتبط تساهميا مع ذره أخرى ذات كهروسالبيه مرتفعه (شكل ٢ ـ ٣). ويمكن للرابطه الهيدروجينيه أن تتكوّن بين جزيئان أو بين مجموعتين كيميائيين فى نفس الجزئ. والنوع الأول هو المسئول بالدرجة الأولى عن التجمع الذاتى للجزيئات الكبيره فى الوحدات التركيبية الاكبر فى الخلايا، أما النوع الثانى فيشارك فى ثبات البناء المجسم ثلاثى الأبعاد فى البروتينات والأحماض النووية.



شكل ٢ ـ ٣

بعض الروابط الهيدروجينيه ذات الاهميه البيولوجية

للماء خواص إذابه أفضل من السوائل الأخرى

إن الخواص الكهربائية والرابطه الهيدروجينيه للماء تُضفى على جزيئاته فاعليه كبيره فى خفض التجاذب الكهروستاتيكى وتفكيك الروابط الهيدروجينيه بين الجزيئات الأخرى. وهذه الخاصية تجعل الماء أفضل مذيب لأنواع عديده من المركبات بالمقارنه بالمذيبات الشائعة الأخرى.

فمعظم الأملاح البللوريه مثل كلوريد الصوديوم تذوب بسهوله فى الماء، ولكنها لا تذوب تقريبا فى المذيبات غير القطبية مثل الهكسان والكلوروفورم. فالماء يُضعف قوى التجاذب الكهروستاتيكى بعامل يبلغ ٨٠ (وهو ثابت الثنائى الكهربى dielectric constant للماء)، بالمقارنه بالهكسان الذى يبلغ ثابت الثنائى الكهربى له ١,٩ (جدول ٢ ـ ٢). فترتبط الشبكة البللورية للملح مع بعضها إرتباطا قوياً بواسطة قوى التجاذب الكهروستاتيكى بين الأيونات الموجبة والأيونات السالبة، وعندما يتعرض الملح البللورى (مثل كلوريد الصوديوم) للماء فإن جزيئات الماء القطبيه تنجذب إلى أيونات الصوديوم Na^+ وأيونات الكلوريد Cl^- فى المحلول، وبذلك تُكوِّن جزيئات الماء غلافاً حول الأيونات

جدول ٢ ـ ٢

ثابت الثنائى الكهربى لبعض المذيبات

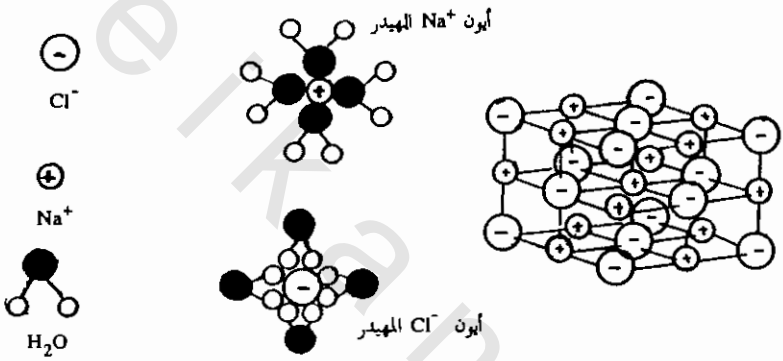
المادة	ثابت الثنائى الكهربى (٢٠° م)
هكسان	١,٩
بنزين	٢,٣
كلورفورم	٥,١
أسيتون	٢١,٤
إيثانول	٢٤
الماء	٨٠

(شكل ٢ ـ ٤). هذا الغلاف المائى ينشأ عنه مجال كهربى والذى يضاد المجال الناتج من الأيونات، وبذلك ينخفض التجاذب الكهروستاتيكى بين الأيونات.

الشبكة البللورية لكوريد الصوديوم NaCl تتماسك مع بعضها بواسطه التجاذب الكهروستاتيكى بين الايونات Na^+ و Cl^-

الماء يذيب البللوره عن طريق هيدره الايونات Na^+ و Cl^- وبذلك يدفعهم بعيدا عن الشبكة

شكل ٢ ـ ٤



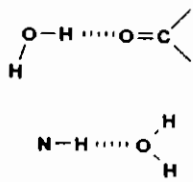
يُذيب الماء عدد كبير من الاملاح المتبلوره عن طريق تكوين غلاف مائى حول الأيونات (هيدره الايونات ions hydration).

وبالإضافة إلى قدره الماء على إذابه كثير من المركبات العضوية التى تحتوى على مجموعات متأنية مشحونه مثل مجموعة الكربوكسيل ($-COO^-$) ومجموعة الأمين ($-NH_3^+$)، فإن له القدره أيضا على إذابه عدد كبير من المركبات العضويه التى تحتوى على مجموعه قطبيه أو أكثر مثل الأحماض الأمينيه والسكريات والالدهيدات والكيتونات. وترجع خاصيه الماء على إذابه المواد القطبيه إلى قدره الماء على تكوين روابط هيدروجينيه مع المجموعات القطبيه فى هذه الجزيئات مع تفكيك الروابط الهيدروجينيه الموجوده أصلا بين هذه المجموعات. فإذا نظرنا إلى تأثير جزيئات الماء على الرابطه الهيدروجينيه بينِ مجموعه الكربونيل ومجموعه الأميد (شكل ٢ ـ ٥)، نجد أن مجموعه (NH) تُستبدل بذرات الهيدروجين فى الماء وبذلك تتكون رابطه هيدروجينيه

بين الماء ومجموعه الكربونيل (C = O)، كما أن مجموعة الكربونيل تُستبدل بذره الاكسجين فى الماء وبذلك تتكون رابطه هيدروجينيه أخرى بين الماء ومجموعه الكربونيل.

فى وسط غير قطبى (لامائى)

فى وسط مائى



شكل ٢ ـ ٥

الماء يذيب المركبات القطبية بالتنافس للرابطة الهيدروجينيه. فى الوسط غير القطبى (لامائى) تتكون الرابطه بين مجموعه الكربونيل والأميد فى الجزيئات العضويه. فى الوسط المائى تتنافس جزيئات الماء للرابطه الهيدروجينيه وبذلك تتكون رابطه هيدروجينيه بين ذره الاكسجين فى الماء ومجموعه الأميد، ورابطه هيدروجينيه أخرى بين ذره الهيدروجين فى الماء ومجموعه الكربونيل فى الجزئ.

نقطة الإتزان للتفاعلات الانعكاسيه يعبر عنها كمياً بثابت الاتزان

نظرا لأهميه التأين الإنعكاسى للماء فى وظيفه الخليه، فإننا يجب أن نتعرف على درجة هذا التأين كمياً فى الظروف الخلوية المختلفة. لذلك فإننا سوف نقوم أولا بمراجعه بعض خصائص التفاعلات الكيميائية الانعكاسية، ففى التفاعل الإنعكاسى التالى :

$$A + B \rightleftharpoons C + D \qquad (١)$$

حيث A و B هما المواد المتفاعله و C و D هما نواتج التفاعل، يتناسب معدّل التفاعل الأمامى (من اليسار إلى اليمين) طرديا مع تركيز كل من المادتين المتفاعلتين A و B .

$$V_F = K_F [A] [B] \qquad (٢)$$

حيث تُعبِّر الأقواس عن التركيز المولر، K_F هى ثابت التناسب ويطلق عليه أيضا المعدَّل النوعى specif rate أو ثابت معدل التفاعل reaction rate constant.

وبالمثل فإن سرعة التفاعل فى الإتجاه العكسى (من اليمين إلى اليسار) يعبر عنه بالمعادلةالتالية:

$$V_R = K_R [C] [D] \qquad (٣)$$

عند الوصول إلى حاله الاتزان تتساوى سرعتى التفاعل فى الاتجاهين

$$V_F = V_R$$

إذن

$$K_F [A] [B] = K_R [C] [D] \qquad (٤)$$

وبإعاده ترتيب معادله (٤) نحصل على

$$\frac{K_F}{K_R} = \frac{[C] [D]}{[A] [B]} \qquad (٥)$$

نسبه الثابتين K_F / K_R يمكن استبدالها بثابت فردى جديد K_{eq} يطلق عليه ثابت الاتزان equilbrium constant

$$k_{eq} = \frac{[C] [D]}{[A] [B]} \qquad (٦)$$

وثابت الاتزان ثابت لكل تفاعل كيميائى تحت الظروف الموحده من درجة الحراره والضغط. وهنا يجب الإشاره إلى الفرق بين تركيز المواد والتركيز النشط أو التركيز الفعّال لها. فمن المعروف أنه يمكن أن تحدث تداخلات بين جزيئات الماده خاصة فى المحاليل المركزه، وتؤدى هذه التداخلات فى محاليل المواد ان يكون التركيز النشط active con-centration أقل من تركيز الماده الحقيقى، ونظرا لان كل ماده لها معامل نشاط يمكن تقديره تجريبيا، فإنه يمكن حساب التركيز النشط لأى ماده من العلاقة:

$$a = C \times \gamma \qquad (٧)$$

حيث a تشير إلى التركيز النشط، C هى تركيز الماده بالمول/ لتر، γ هى معامل النشاط activity coefficient . وقيمه ثابت الإتزان فى هذه الحاله هى النسبة بين حاصل ضرب التركيز النشط للمواد الناتجه من التفاعل إلى حاصل ضرب التركيز النشط للمواد المتفاعله. فى المحاليل المخففه تصبح التداخلات بين جزيئات كل مادة أقل بحيث يمكن فى المحاليل المخففه جدًا إعتبار معامل النشاط مساويا للوحده، ويصبح التركيز المولر مساوياً للتركيز النشط. وفى هذا المؤلف لن نحاول ان نفرق بين التركير المولر والتركيز النشط حيث أن تركيز المواد فى كثير من التفاعلات البيوكيميائيه منخفض جداً.

تأين الماء يعبر عنه بثابت الإتزان

لجزيئات الماء قدره ضعيفه على التأين الانعكاسى لتُعطى أيون الهيدروجين H^+ وأيون الهيدروكسيل OH^-، وبذلك فإن حاله الإتزان يعبر عنها بمعادله (٨).

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^- \qquad (٨)$$

ويجب الإشاره أن أيون الهيدروجين H^+ لا يوجد بهذه الصوره فى المحاليل المائية، ولكنه مثل الأيونات الأخرى يوجد فى صوره مائيه والتى يطلق عليها أيون الهيدرونيوم hydro-nium ion ، وهذا غالبا ما يعبر عنه بالرمز H_3O^+ . ولكن من الثابت أيضا أن أيون الهيدروجين يحاط باكثر من جزئ ماء والذى يتوقف عددها على درجة الحراره وحاله المحلول، لذلك ففى صياغتنا لأيون الهيدروجين سوف نستخدم دائما الرمز H^+.

ثابت الإتزان للتأين الانعكاسى للماء يعبر عنه بالمعادلة التالية :

$$K_{eq} = \frac{[H^+]\,[OH^-]}{[H_2O]} \qquad (٩)$$

قد أمكن تقدير قيمه ثابت الإتزان K_{eq} بدقه فى الماء النقى من قياسات التوصيل الكهربى ووجدت أنها تساوى ١,٨ × ١٠$^{-١٦}$ عند درجة ٢٥ °م أى أن

$$K_{eq} = \frac{[H^+]\,[OH^-]}{[H_2O]} = 1.8 \times 10^{-16}$$

وبتعديل هذه المعادله فإنها تأخذ الصوره التاليه

$$(K_{eq})\,(H_2O) = [H^+]\,[OH^-]$$

$$(1.8 \times 10^{-16})\,[H_2O] = [H^+]\,[OH^-]$$

ونظرا لأن تركيز الماء مرتفع جداً بالنسبة لتركيز أيونات الهيدروجين والهيدروكسيل وهو يساوى $\frac{١٠٠٠}{١٨}$ أو ٥٥,٥ مول/ لتر، بالإضافة إلى أن تركيزه فى المحاليل المائية المخففة لا يتغير أساساً عن تركيز الماء النقى، فيمكن إعتبار تركيز الماء ثابت أخر يمكن إدماجه مع ثابت الإتزان لنحصل على

$$(1.8 \times 10^{-16})\,[55.5] = [H^+]\,[OH^-]$$

$$1.0 \times 10^{-14} = [H^+]\,[OH^-]$$

ويُستخدم ثابت جديد K_w للتعبير عن ناتج الضرب $55.5 \times K_{eq}$ وبذلك نحصل على العلاقة التاليه:

$$K_w = 1.0 \times 10^{-14} = [H^+]\,[OH^-] \quad (١٠)$$

يطلق على الثابت الجديد K_w الحاصل الأيونى ion product للماء، وهو تعبير عن العلاقه بين تركيز أيون الهيدروجين وأيون الهيدروكسيل فى المحاليل المائية. فحاصل ضرب تركيز أيون الهيدروجين وأيون الهيدروكسيل فى المحاليل المائية عند ٢٥ °م يساوى دائما قيمه ثابته وهى ١ × ١٠$^{-١٤}$. وعندما يكون تركيز أيون الهيدروجين مساوياً لتركيز أيون الهيدروكسيل كما هو فى الماء النقى فيقال عن المحلول فى هذه الحاله أنه متعادل neutral ، وفى هذه الحاله يمكن حساب تركيز أيون الهيدروجين من معادلة ناتج الأيون

$$[H^+] = [OH^-] = \sqrt{K_w} = 1 \times 10^{-7} \text{ mole / liter}$$

وفى المحاليل الحامضيه (محلول حامض الهيدروكلوريك) يكون تركيز أيون

الهيدروجين أكبر من ١×١٠$^{-٧}$ مول / لتر، لكن يظل حاصل ضرب تركيز أيون الهيدروجين وأيون الهيدروكسيل (حاصل الأيون) ثابتاً ويساوى أيضا ١ × ١٠$^{-١٤}$ مول / لتر، وليتحقق ذلك يجب أن ينخفض تركيز أيون الهيدروكسيل. أيضا فى المحاليل القاعديه (محلول هيدروكسيد الصوديوم) يزيد تركيز أيون الهيدروكسيل عن تركيز أيون الهيدروجين ولكن يظل حاصل الأيون ثابتاً (١ × ١٠$^{-١٤}$)، وبذلك فإنه يمكن حساب تركيز أيون الهيدروجين إذا عُلم تركيز أيون الهيدروكسيل والعكس صحيح.

الرقم الهيدروجينى (pH) مقياس مناسب لتركيز أيونات H^+ و OH^-

فى عام ١٩٠٩ قدم العالم الدنماركى سورنس Sörensen إصطلاح الرقم الهيدروجينى pH كوسيله مناسبه للتعبير عن تركيز أيون الهيدروجين (وكذلك أيون الهيدروكسيل) فى أى محلول مائى وذلك فى المدى من ١ مول/ لتر لأيون H^+ إلى ١ مول / لتر لأيون OH^- ، والرقم الهيدروجينى يعبّر عنه بالصيغه التاليه

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = - \log [H^+]$$

وفى المحول المتعادل على درجة ٢٥ م حيث يكون تركيز أيون الهيدروجين ١×١٠$^{-٧}$، فإن الرقم الهيدروجينى يحسب من العلاقه التاليه

$$pH = \log \frac{1}{[1x10^{-7}]} = - \log [1x10^{-7}] = 7$$

فالمحلول ذو الرقم الهيدروجينى الأقل من ٧ هو محلول حامضى acidic، بينما المحلول ذو الرقم الهيدروجينى الأكبر من ٧ هو محلول قاعدى alkaline (جدول ٢ ـ ٣). ومقياس الرقم الهيدروجينى مقياس لوغاريتمى، وعلى ذلك إذا اختلف محلولين بمقدار الوحده من الرقم الهيدروجينى فإن هذا يعنى ان تركيز أيون الهيدروجين فى المحلول ذى الرقم الهيدروجينى الأقل يكون اكبر عشره أضعاف عن المحلول ذو الرقم الهيدروجينى الأكبر.

جدول ٢ ـ ٣

مقياس الرقم الهيدروجينى (pH)

	pOH	$[OH^-]$ M	pH	$[H^+]$ M
حامضى	١٤	$١٠^{-١٤}$	صفر	١
	١٣	$١٠^{-١٣}$	١	,١
	١٢	$١٠^{-١٢}$	٢	,٠١
	١١	$١٠^{-١١}$	٣	,٠٠١
	١٠	$١٠^{-١٠}$	٤	$١٠^{-٤}$
	٩	$١٠^{-٩}$	٥	$١٠^{-٥}$
	٨	$١٠^{-٨}$	٦	$١٠^{-٦}$
متعادل	٧	$١٠^{-٧}$	٧	$١٠^{-٧}$
قاعدى	٦	$١٠^{-٦}$	٨	$١٠^{-٨}$
	٥	$١٠^{-٥}$	٩	$١٠^{-٩}$
	٤	$١٠^{-٤}$	١٠	$١٠^{-١٠}$
	٣	,٠٠١	١١	$١٠^{-١١}$
	٢	,٠١	١٢	$١٠^{-١٢}$
	١	,١	١٣	$١٠^{-١٣}$
	صفر	١	١٤	$١٠^{-١٤}$

فى بعض الأحيان يُستخدم الإصطلاح رقم الهيدروكسيل pOH للتعبير عن قاعديه أو تركيز أيون الهيدروكسيل للمحاليل والذى يعرّف بالصيغه التاليه:

$$pOH = \log \frac{1}{[OH^+]} = -\log [OH^-]$$

والعلاقه بين الرقم الهيدروجينى pH ، رقم الهيدروكسيل pOH والتى يمكن إشتقاقها من معادله حاصل الأيون (معادله ١٠) تكون بالصوره التاليه:

$$pH + pOH = 14$$

يحدد الرقم الهيدروجينى (تركيز أيون الهيدروجين) عديد من مقومات تركيب وفاعليه الجزيئات الكبيره مثل النشاط الحفزى للإنزيمات وإرتباط المعادن والجزيئات الصغيره مع الجزيئات الكبيره. ويلعب أيون الهيدروجين أيضا دوراً بارزاً فى عدد من العمليات البيولوجية المهمة فى الميتوكوندريا و الكلوروبلاست، فنقل الالكترونات عبر سلسله نقل الالكترونات فى الميتوكوندريا أو الكلوروبلاست ينشأ عنه متدرّج من تركيز أيون الهيدروجين والذى يؤدى إلى تكوين جهد كهربى يدفع فسفره ADP وتكوين ATP وهو الجزئ الأساسى الحامل للطاقة فى الأنظمة الحيه.

ونظرا لما للرقم الهيدروجينى من أهميه فى الأنظمه الحيه فإنه من الضرورى توافر وسيله ما لتقديره بدقه مناسبه. فيستخدم لذلك جهاز قياس الرقم الهيدروجينى pH me-ter، والذى يحتوى على قطب من زجاج خاص يسمح بنفاذيه أيون الهيدروجين دون الأيونات الصغيره الأخرى مثل الصوديوم Na^+ والبوتاسيوم K^+. ويتم قياس الرقم الهيدروجينى بقياس الجهد الناتج بين هذا القطب وقطب آخر يحتوى على رقم هيدروجينى معروف، ثم تحويل وحدات الجهد بعد تكبيرها إلى وحدات للرقم الهيدروجينى.

الأحماض والقواعد تعكس خصائص الماء

ينتشر فى الأنظمه الحيه بعض الأحماض الضعيفه والقواعد الضعيفه والتى تلعب دوراً مهماً فى أيض المركبات وتنظيمه، لذلك فمن الأهميه دراسه سلوك المحاليل المائيه للأحماض والقواعد الضعيفه.

يُعرَّف الحامض بأنه الماده المعطيه للبروتون proton donor، أما القاعده فهى الماده المستقبله للبروتون proton acceptor، ويُشكّل معطى البروتون ومُستقبل البروتون المقابل زوج الحمض والقاعده conjugate acid base pair (جدول ٢ ـ ٤). مثال ذلك حمض الأسيتيك (CH_3COOH) هو مانح البروتون، وأيون الأسيتات (CH_3COO^-)هو مستقبل البروتون، ويمثلان زوج الحمض ـ القاعده ويرتبطان ببعضهما بالتفاعل الإنعكاسى التالى:

جدول ٢ ـ ٤

بعض ازواج الحمض ـ القاعده المرافقه، كل زوج يتكون من مُعطى البروتون ومُستقبل للبروتون

معطى البروتون	مستقبل البروتون
CH_3COOH	CH_3COO^-
NH_4^+	NH_3

$$CH_3COOH \rightleftharpoons H^+ + CH_3COO^-$$

مُعطى البروتون (الحمض المرافق) — مُستقبل البروتون (قاعده مرافقه)

وكل حمض له ميل مميز لفقد البروتون فى المحلول المائى، ويعبر عن درجة ميل الأحماض لفقد البروتون بقوه الحمض. فالأحماض القويه هى التى تتفكك كليه إلى البروتون والأنيون فى الماء، مثال ذلك حمض الهيدروكلورى (HCl) وحمض النيتريك (HNO_3) وحمض الكبريتيك (H_2SO_4) . وتركيز أيون الهيدروجين لمحاليل الأحماض القويه يساوى تركيز الحمض، وعلى ذلك فان الرقم الهيدروجينى لمحلول الحمض القوى هو ببساطه $\log C_{HA}$ ـ (حيث C_{HA} هو تركيز الحمض بالمول / لتر) وذلك للأحماض أحاديه الهيدروجين مثل HCl.

الأحماض الضعيفة من ناحية أخرى لا تتفكك بصوره كامله فى المحاليل المائية، وعلى ذلك فإن تركيز أيون الهيدروجين يكون أقل من تركيز الحمض المضاف للمحلول. وميل الحمض الضعيف HA للتفكك وتكوين البروتون H^+ والقاعدة المرافقه A^- يُعبرّ عنه كميًا بثابت الإتزان أو ثابت التفكك k للتفاعل التالى:

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

والذى هو

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \qquad (١١)$$

ثابت التفكك لبعض الأحماض والذى غالبا ما يُرمز له K_a (a تشير إلى حمض acid) مُدوّن فى جدول (٢ ـ ٥). الأحماض القويه نسبيا مثل حمض الفورميك لها ثابت تفكك كبير، بينما الأحماض الضعيفه مثل أيون الأمونيوم يكون لها ثابت تفكك صغير جداً.

ويمكن إجراء تحويل لوغاريتمى لثابت التفكك K للحصول على مقياس مشابه لمقياس الرقم الهيدورجينى، ويعبر عن المقياس اللوغاريتمى لثابت التفكك (والذى سنطلق عليه اللوغاريتم السالب لثابت التفكك) بالعلاقه التاليه

$$pK = \log \frac{1}{K} = -\log k$$

وقيمه pK يمكن مقارنتها بسهوله عن قيم K كما هو فى حاله الرقم الهيدروجينى pH . ويوضح جدول (٢ ـ ٥) أيضا قيم pK للأحماض المدونه، ويلاحظ من الجدول أن pK تكون صغيره للأحماض القويه والعكس صحيح.

جدول ٢ ـ ٥

ثابت التفكك (K) واللوغاريتم السالب لثابت التفكك (pK) لبعض الأحماض الشائعه

الحمض (معطى البروتون)	K (جرام جزيئى)	pK
حمض الفورميك ($HCOOH$)	$١,٧٨ \times ١٠^{-٤}$	٣,٧٥
حمض الاسيتيك (CH_3COOH)	$١,٧٤ \times ١٠^{-٥}$	٤,٧٦
حمض البروبيونيك (CH_3CH_2COOH)	$١,٣٥ \times ١٠^{-٥}$	٤,٨٧
حمض الفوسفوريك (H_3PO_4)	$٧,٢٥ \times ١٠^{-٣}$	٢,١٤
أيون الفوسفات ثنائى الهيدروجين ($H_2PO_4^-$)	$١,٣٨ \times ١٠^{-٧}$	٦,٨٦
أيون الفوسفات أحادى الهيدروجين (HPO_4^{2-})	$٣,٩٨ \times ١٠^{-١٣}$	١٢,٤
حمض الكربونيك (H_2CO_3)	$١,٧٠ \times ١٠^{-٤}$	٣,٧٧
أيون البيكربونات (HCO_3^-)	$٦,٣١ \times ١٠^{-١١}$	١٠,٢
أيون الأمونيوم (NH_4^+)	$٥,٦٢ \times ١٠^{-١٠}$	٩,٢٥

معادله هندروسون ـ هاسلبالخ

وضع هندرسون وهاسلبالخ Henderson - Hasselbalch معادله تُعرف باسميهما والتى توضح العلاقه بين الرقم الهيدروجينى ونسبه الحامض إلى القاعده المرافقه. وهذه المعادله لها أهميتها فى تفهم عمل المحاليل المنظمه والإتزان الحامضى ـ القاعدى فى الأنسجة الحيه. ويمكن إشتقاق هذه المعادله من التحويل اللوغاريتمى لمعادله ثابت التأين للحمض (معادله ١١) كالآتى:

$$K = \frac{[H^+]\,[A^-]}{[HA]}$$

والحل بالنسبه لأيون الهيدروجين يعطى المعادله التاليه

$$[H^+] = K \frac{[HA]}{[A^-]}$$

وبأخذ اللوغاريتم السالب لطرفى المعادله

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

وباستبدال $\log [H^+]$ ـ بالرقم الهيدروجينى pH ، و $-\log k$ بـ pK نحصل على

$$pH = pK - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

أو

$$pH = pK + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \qquad (١٢)$$

ويفحص معادله (١٢) نجد أن pK لأى حامض تساوى الرقم الهيدروجينى pH الذى عنده يكون نصف الحمض متفكك ($A^- = HA$).

ويمكن إستخدام معادله (١٢) فى حساب الرقم الهيدروجينى pH إذا عرفت نسبة A^- إلى HA و pK للحمض HA. فالمحلول الذى يكون تركيزه ١, مولر

لحمض الأسيتيك و ٠,٢ مولر لأيون الأسيتات و pK لحمض الأسيتيك ٤,٨ فإن الرقم الهيدروجينى للمحلول تُحسب من العلاقة التاليه:

$$pH = 4.8 + \log \frac{0.2}{0.1} = 4.8 + 1092$$

$$= 4.8 + 0.3 = 5.1$$

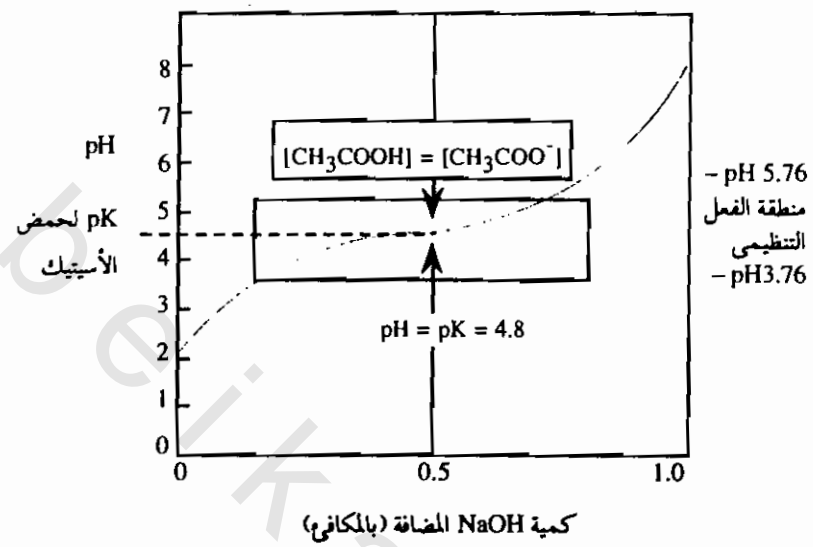
وبالعكس فإنه يمكن حساب pK لأى حمض إذا كان معروفا لدينا الرقم الهيدروجينى ونسبة A^- إلى HA .

المحاليل المُنَظمه هى مخلوط من الأحماض الضعيفة والقواعد المرافقة المقابلة

زوج المركّبان المؤلّف من حمض ضعيف والقاعده المرافقه مثل حمض الاسيتيك وأسيتات الصوديوم له خاصيه مهمه آلا وهى مقاومته للتغير فى الرقم الهيدروجينى للمحلول، وبكلمات أخرى فإنه يعمل كمحلول مُنظّم buffer. انظر إلى إضافة أيون الهيدروكسيل OH^- إلى محلول من حمض الأسيتيك

$$CH_3COOH + OH^- \rightleftharpoons CH_3COO^- + H_2O$$

ورسم العلاقه بين الرقم الهيدروجينى pH لهذا المحلول مع كميه OH^- المضافه يطلق عليه منحى المعايره titration curve (شكل ٢ ـ ٦). ويلاحظ أن هناك نقطة إنقلاب in-flection Point فى المنحنى عند رقم هيدروجينى يساوى ٤,٨ وهى تمثل pK لحمض الأسيتيك، وفى المنطقة المجاوره لهذا الرقم الهيدروجينى يلاحظ أن كمية كبيرة نسبيا من OH^- تُحدث تغير صغير فى الـ pH . وبصوره عامة فإن الأحماض الضعيفة يكون لها نشاط تنظيمى مؤثر ضد التغير فى الرقم الهيدروجينى فى المنطقة المجاوره لقيمة pK الخاصة بها.



شكل ٢ ـ ٦

منحنى المعايره لحمض الاسيتيك

وترجع قدرة المحلول المُنظِّم فى مقاومة التغير فى الرقم الهيدروجينى عند إضافة حمض أو قاعدة إلى هذا المحلول إلى تحوُّل أيونات H^+ (من الحمض المضاف) أو أيونات OH^- (من القاعدة المضافة) إلى حالة مرتبطة، فالمحلول المنظم من حمض الاسيتيك وأسيتات الصوديوم يعمل كمنظِّم بالطريقة التاليه:

إضافة حمض (H^+) إلى المحلول المنظم.

$$H^+ + CH_3COO^- \rightleftharpoons CH_3\ COOH$$

فيتحول أيون الهيدروجين (H^+) من الحمض المضاف إلى صورة مرتبطة فى حمض الأسيتيك

اضافة قاعدة (OH^-) إلى المحلول المنظم.

$$OH^+ + CH_3COOH \rightleftharpoons CH_3\ COO^- + H_2O$$

فيتحول أيون الهيدروكسيل (OH^-) من القاعدة المضافة إلى صورة مرتبطة فى الماء.

الفوسفات والبيكربونات هى أهم منظمات الرقم الهيدروجينى فى الأنظمة البيولوجية

تتميز السوائل الخلوية فى كل الكائنات الحية برقم هيدروجينى ثابت والذى يُنظَّم بأنشطة بيولوجية مختلفة. مع ذلك فإن خط الدفاع الأول للكائنات الحية ضد التغير فى الرقم الهيدروجينى هو وجود أنظمة تحكم فى الرقم الهيدروجينى. وأهم أنظمة التحكم فى الثديات هى الفوسفات والبيكربونات.

نظام الفوسفات والذى يكون مهما فى السوائل الخلوية يتكون من زوج الحامض $H_2PO_4^-$ الذى يعمل كمعطى للبروتون، والقاعدة HPO_4^{2-} التى تعمل كمستقبل للبروتون.

$$H_2PO_4^- \rightleftharpoons H^+ + HPO_4^{2-}$$

ويعمل نظام الفوسفات بنفس الطريقة التى يعمل بها نظام الأسيتات، ولكن يختلف عنه فى مدى الرقم الهيدروجينى الذى يعمل فيه. فنظام الفوسفات يعمل كمنظم للرقم الهيدروجينى بكفاءة بالقرب من الرقم الهيدروجينى ٦,٨٦ ، وذلك لأن pK له تساوى ٦,٨٦ . وعلى ذلك فإن نظام الفوسفات $H_2PO_4^-$ – HPO_4^{2-} يقاوم التغير فى الرقم الهيدروجينى فى المدى من ٦,١ ـ ٧,٧ ، ويظهر أنه يوفر قوة تنظيمية للسوائل الخلوية الذى يكون الرقم الهيدروجينى لها فى المدى من ٦,٩ إلى ٧,٤ .

نظام التحكم الاساسى للرقم الهيدروجينى فى بلازما الدم هو نظام البيكربونات والذى يتألف من حمض الكربونيك كمعطى للبروتون والبيكربونات كمستقبل للبروتون

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

ونظرا لأن pK لحمض الكربونيك تكون ٦,١ فإن نسبة القاعدة المرافقة HCO_3^- إلى الحمض الضعيف H_2CO_3 يكون تقريبا ٢٠ : ١ عند الرقم الهيدروجينى الطبيعى للدم وهو ٧,٣٥ ـ ٧,٤٥ ، ولذلك فإنه من المتوقع ألا يكون نظام الكربون مؤثراً فى مقاومة التغير فى الرقم الهيدروجينى، لكن فى الحقيقة فإنه نظام تحكم على درجة كبيرة من

الأهمية فى الدم. وتفسير ذلك أن H_2CO_3 يوجد فى حالة إتزان سريع مع CO_2 الذائب dissolved فى البلازما (معادلة ١٣)، وهذا الإتزان يحفز بإنزيم cardonic anhybrase الذى يوجد فى خلايا الدم الحمراء

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons CO_{2\,dis} + H_2O \qquad (١٣)$$

و CO_2 المذاب يكون بدوره فى حالة إتزان مع CO_2 الجوى، وبناء على الضغط الجزيئى لـ CO_2 فى الطور الغازى فإنه إمّـا أن يتحرر إلى الطور الهوائى (كما فى الرئة حيث يخرج CO_2)، أو يدخل إلى الدم (كما فى الأنسجة المحيطة حيث يتولد CO_2 من اكسدة جزيئات الوقود). وعلى ذلك فإن النظام H_2CO_3-HCO_3^- يعمل ليس بتغيير النسبة ٢٠ : ١ للقاعدة المرافقة HCO_3^- إلى الحمض الضعيف H_2CO_3، ولكن بدلا من ذلك هو المحافظة على هذه النسبة ٢٠ : ١ مع زيادة أو انخفاض الكمية الكلية لعناصر النظام $H_2CO_3 + HCO_3^-$.

ملائمة البيئة المائية للكائنات الحية

لقد تاقلمت الكائنات الحية للبيئة المائية التى تعيش فيها، واصبحت لها وسائل خاصة للاستفادة من الصفات المميزة للماء. فالحرارة النوعية العالية للماء تسمح له بأن يعمل كمنظم حرارى heat buffer للخلية، حيث يحافظ على درجة حرارة الجسم ثابتة تقريبا حتى بتغير درجة حرارة الوسط المحيط. بالإضافة إلى ذلك فإن حرارة التبخير العالية للماء قد استخدمت فى بعض الفقاريات كوسيلة لفقد الحرارة الزائدة بتبخير العرق. كذلك استفادت النباتات من خاصية التماسك الداخلى لجزيئات الماء بواسطة الروابط الهيدروجينية لنقل المواد المغذية الذائبة من الجذور إلى الاوراق اثناء عملية النتح. ومن المعلوم أن للثلج كثافة أقل من الماء، وهذا يؤدى إلى طوفان الثلج فوق الماء، ولهذا أهمية كبيرة بالنسبة لدورة حياة الأحياء المائية.

المراجع

Conn, E.E., P.K. Stumpf, G. Bruening, and R.H. Doi: Outlines of Biochemistry, 5 th ed., John Wiley & Sons, New York, 1987.

Dick, D.A.T.: Cell water, Butterwirths, Washington, 1966.

Eisenberg, D., and W. Jauzmann: The Structure and Properties of Water, Oxford University Press, Fair Lawn, N.J., 1969.

Henderson, L.J.: The Fitness of the Environment. Boston, Beacon Press, 1958.

Lehninger, A.L.: Principles of Biochemistry, Worth, New York 1982.

Montgomery, R., and C.A. Swenson: Quantitative Problems 'in Biochemical Sciences, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1976.

Segel, I.H.: Biochenical Calculations, 2nd ed., Wiley, New York, 1976.

Sober, H.A.; Handbook of Biochemistry 2nd ed., Cleveland, Ohio, Chemical Rubber Co., 1970.

Solomon, A.K.: The State of Water in Red clls, Scientific America, 244 : 88 - 96, February (1971).

obeikandl.com

تمارين

١ ـ إشرح باختصار لماذا تؤدى الروابط الهيدروجينية بين جزيئات الماء إلى ارتفاع السعه الحرارية للماء؟

٢ ـ مدون أسفل بعض الخواص الكيميائيه والفيزيائية للماء، ومدون أيضا بعض الفوائد التى تتحصل عليها الكائنات نتيجة لخواص الماء هذه ـ أربط كل من خواص الماء فى القائمة الأولى مع الفائدة الملائمة فى القائمة الثانية

خواص الماء	الفائدة للكائنات الحية
(أ) سعة حرارية مرتفعة	(١) تحمى الكائنات ضد التجمد على درجات الحرارة المنخفضة
(ب) كثافة أعلى عن الثلج	(٢) الحيوانات الأرضية يمكن أن تُبرِّد نفسها عن طريق تبخر الماء من السطح بأقل فقد من سوائل الجسم
(جـ) حرارة إنصهار مرتفعة	(٣) الأغشية الخلوية تتكون من جزيئات صغيرة من الليبيدات التى ترتبط مع بعضها بروابط غير تساهمية وتكون ثابتة من الناحية الثرموديناميكية
(د) قطبية جزئ الماء	(٤) التغيرات فى درجة حرارة الجسم تكون أقل ما يمكن.
(ح) حرارة تبخير مرتفعة	(٥) البيئة المائية فى المناخ البارد تتجهه فقط إلى تجميد السطح بدلا من تجميد القاع.

٣ ـ أحسب الـ pH للمحاليل التاليه (أ) $١٠^{-٤}$ مولر $[H^+]$ (ب) ٣×١٠^{-١١} مولر $[H^+]$

٤ ـ احسب تركيز أيون الهيدروجين $[H^+]$ للمحاليل التالية (أ) محلول الرقم الهيدروجينى (pH) له يساوى ٢,٧٣ (ب) محلول الرقم الهيدروجينى (pH) له يساوى ١١,١٢

٥ ـ حمض HCl المركز تركيزه ٣٧,٥٪ بالوزن وكثافته ١,١٩ ـ إشرح كيف يمكن تحضير ٥٠٠ مل ذات تركيز ٢, مولر HCl من المحلول المركز.

٦ ـ ما هو تركيز أيون الهيدروجين لمحلولو حمض الأسيتيك ١ مولر (pK = ٤,٧٤).

٧ ـ ما هو الرقم الهيدروجينى (pH) وتركيز المحلول المنظم الناتج من إذابه ٣,٤٨ جرام K_2HPO_4 و ٢,٧٢ جرام KH_2PO_4 فى ٢٥٠ مل من الماء النقى.

٨ ـ ما هو حجم حمض الاسيتيك الثلجى (١٠٠٪ حمض أسيتيك) وما هو وزن اسيتات الصوديوم التى تحتوى على ثلاثة جزيئات ماء $(CH_3 - COONa.\ 3H_2O)$ اللازمة لتحضير ١٠٠ مل ٢, مولر محلول منظم عند pK ٤,٥ (pK لحمض الاسيتيك تساوى ٤,٧٤).

فصل ٣

الكربوهيدرات

Carbohydrates

الكربوهيدرات، التى تشمل السكريات الأحادية وسكريات الاليجو وعديدات السُكّر تُشكّل الجزء الاكبر من المادة العضوية المنتشرة فى المحيط الحيوى biosphere. ففى خلايا البناء الضوئى يتحول ثانى اكسيد الكربون والماء باستخدام طاقة أشعة الشمس إلى مواد كربوهيدراتية مختلفة، والتى يتكون منها أو من نواتج أيضها المركبات الخلوية الأخرى. وعلى ذلك فان الكربوهيدرات تُمثّل نقطة تحول الكربون غير العضوى إلى الكربون العضوى مع تحول الطاقة الشمسية إلى طاقة كيميائية مخزنه فى الروابط التساهمية للمواد الكربوهيدراتية والمركبات الخلوية الأخرى.

النشا والمواد الكربوهيدراتية الأخرى التى تُصنّع فى عملية البناء الضوئى تصبح المصدر الوحيد للطاقة والكربون للخلايا التى لا تقوم بعملية البناء الضوئى فى الحيوانات والنباتات والكائنات الدقيقة. وللكربوهيدرات وظائف بيولوجية أخرى مهمة، فالنشا والجلايكوجين تستخدم كمخزن مؤقّت للجلوكوز، بعض عديدات السُكّر غير الذائبة تستخدم كعناصر

المحيط (الغلاف) الحيوى Biosphere يتضمن المحيط الحيوى المناطق من الأرض والغلاف الجوى المحيط بها التى تعيش فيها الكائنات الحية.

بنائية ودعامية فى جدر خلايا البكتريا والنباتات وفى الانسجة الضامة وفى أغلفة الخلايا الحيوانية.

توجد ثلاثة أقسام رئيسية للكربوهيدرات

تُعرَّف الكربوهيدرات بأنها الدهيدات أو كيتونات عديده الهيدروكسيل أو المواد التى ينتج عن تميؤها أحد هذه المركبات. ومعظم المواد الكربوهيدراتية لها الصيغة الجزيئية $(CH_2O)_n$ ، وهذه الصيغة الجزيئية قد شاركت فى بادئ الأمر فى الاعتقاد بأن هذه المجموعة من المركبات هى مائيات الكربون hydrates of carbon والتى اشتق منها اسم كربوهيدرات Carbohydrates . وبالرغم من أن كثيراً من الكربوهيدرات الشائعة لها هذه الصيغة الجزيئية $(CH_2O)_n$ فإن البعض لا ينطبق عليه هذه الصيغة، بالإضافة إلى ذلك فإن البعض الآخر يحتوى على ذرات نتروجين أو فوسفور أو كبريت.

توجد ثلاثة أقسام رئيسية للكربوهيدرات وهى السكريات الأحادية monosaccharides وسكريات الاليجو oligosaccharides وعديدات السكر polysaccharides.

Saccharide : كلمة لاتينية تعنى سكر Sugar
Oligo : كلمة لاتنية تعنى عدد قليل

والسكريات الأحادية أو السكريات البسيطة simple sugars تتكون من وحدة فردية من الالدهيد أو الكيتون عديد الهيدروكسيل والتى لا تنحل مائيا إلى وحدات أصغر تحت ظروف معتدله. واكثر السكريات الأحادية انتشاراً فى الطبيعة هو السكر سداسى الكربون D ـ جلوكوز D - glucose.

سكريات الاليجو تتكون من عدد قليل من السكريات الأحادية التى ترتبط مع بعضها بواسطة الروابط التساهمية. وقد تتكون سكريات الأليجو من وحدتين، أو ثلاثة، أو ...،

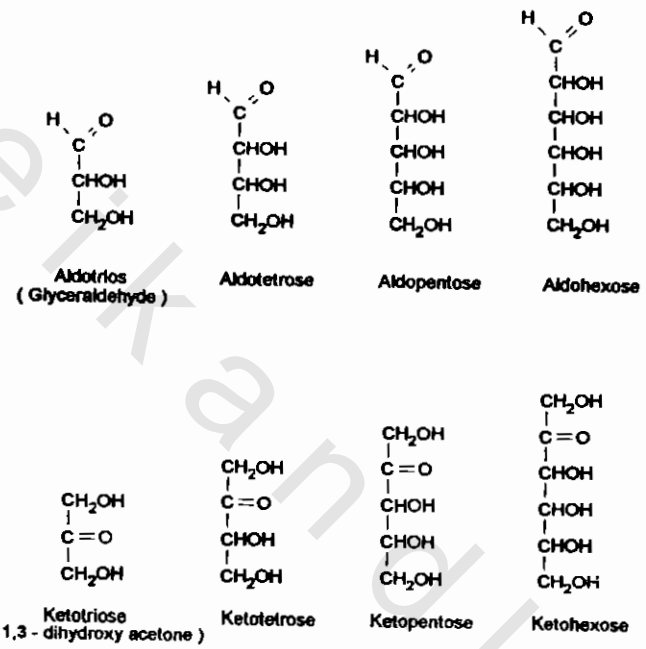
أو عشر وحدات من السكر الأحادى. واكثر هذه السكريات انتشاراً فى الأنظمة الحية هى السكريات الثنائية disaccharides التى تحتوى على وحدتين من السكريات الأحادية، ومنها سكروز sucrose أو سكر القصب الذى يتألف من إرتباط السكر الأحادى D- جلوكوز والسكر الأحادى D- فركتوز برابطة تساهمية. ومعظم سكريات الأليجو التى تحتوى علىَ ثلاثة وحدات أو اكثر من السكريات الأحادية لا توجد حرة ولكنها توجد مرتبطة كسلسلة جانبية فى الجلايكوبروتينات glycoproteins .

عديدات السكر هى جزيئات ذات سلاسل كربونية طويلة تحتوى على مئات أو آلاف من وحدات السكر الأحادى التى ترتبط مع بعضها أيضا بروابط تساهمية. وبعض عديدات السُّكّرى مثل السليلوز cellulose عبارة عن سلسلة خطية، والبعض الأخر مثل الجلايكوجين glycogen عبارة عن سلسلة متفرعة.

يوجد صنفان من السكريات الأحادية: سكريات الدهيدية (الدوزات) وسكريات كيتونية (كيتوزات)

كما سبق ذكره فإن السكريات الأحادية الشائعة لها الصيغة الجزيئية $(CH_2O)_n$ حيث n تساوى ثلاثة أو اكثر. وعند فحص البناء الكيميائى لها سنجد أن المجموعات الفعّالة التى تميزها هى مجموعات الهيدروكسيل ومجموعات الكربونيل. ويحتوى السكر الأحادى على مجموعة كربونيل واحدة وتحمل كل ذرة كربون من الذرات الباقية مجموعة هيدروكسيل. وتقسم السكريات الأحادية بناءاً على عدد ذرات الكربون فى جزئ السكر، ويشتق الاسم العام للسكر بذكر المقطع اللاتينى الدال على عدد ذرات الكربون فى الجزئ (تراى tri، تترا tetr، بنت pent، هكس hex، وهكذا) ويضاف له فى النهاية مقطع وز (ose)، فيقال ترايوز triose للسكر الذى يحتوى على ثلاثة ذرات كربون، وتتروز tetrose للسكر الذى يحتوى على أربع ذرات كربون وهكذا. كذلك يضاف المقطع الدو Aldo أو كيتو Keto قبل الاسم عندما تكون مجموعة الكربونيل فى السكر الدهيد اوكيتون على التوالى. مثال ذلك الدوترايوز تطلق على السكر الالدهيدى الذى

يحتوى على ٣ ذرات كربون، والدوهكسوز تطلق على السكر الالدهيدى الذى يحتوى على ٦ ذرات كربون، أما السكريات الكيتونية التى تحتوى على ٣ أو ٦ ذرات كربون يطلق عليها كيتوترايوز وكيتوهكسوز على التوالى شكل (٣ ـ ١).



شكل ٣ ـ ١

التسمية العامة للسكريات الأحادية حسب عدد ذرات الكربون ونوع مجموعة الكربونيل الموجودة فى الجزئ

وأبسط السكريات الأحادية هى الجليسرالدهيد (سكر ثلاثى الدهيدى) و ١، ٣ ـ ثنائى هيدروكسى أسيتون (سكر ثلاثى كيتونى)، وهى قليلة الإنتشار فى الطبيعة. من ناحية أخرى فإن السكريات سداسية الكربون هى اكثر السكريات الأحادية انتشاراً فى الطبيعة.

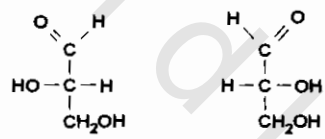
السكريات الأحادية الشائعة تحتوى على عدة ذرات كربون غير متماثلة

السكريات الالدهيدية التى تحتوى على ثلاثة ذرات كربون أو اكثر، والسكريات الكيتونية

التى تحتوى على أربع ذرات كربون أو اكثر تحتوى على ذرات كربون كيرالية Chiral (أو غير متماثلة asymmetric) ، لذلك فانها توجد فى صورة متشكّلات isomers نشطة ضوئيا. وتسميه السكريات الأحادية يعتمد بذلك على التوزيع الفراغى للمجموعات الكيميائية حول كل مركز كيرالى chiral center.

كيراليه Chiral : صفة للكلمة اللاتينية Cheir والتى تعنى اليد. فالمتشكّلان الناتجان عن مركز كيرالى تكون العلاقة الفراغية بينهما مثل علاقة اليد اليمنى باليد اليسرى.

أبسط السكريات الأحادية وهو الجليسر الدهيد يحتوى فقط على مركز كيرالى واحد (وهى ذره الكربون رقم ٢) وبالتالى فإن له متشكّلين فراغيين مختلفين أحدهما صوره فى المرآة للآخر (شكل ٣ ـ ٢)، ويختلف هذان المتشكّلان فى تأثيرهما على الضوء



L (-) Glyceraldehyde D (+) Glyceraldehyde

شكل ٣ ـ ٢

المتشكلات الفراغية للجليسرالدهيد الذى يحتوى على مركز كيرالى واحد هو ذرة الكربون رقم ٢.

المستقطب فى مستو. فالمتشكّل الذى يدير مستوى الضوء فى إتجاه اليمين (إتجاه حركة عقرب الساعة) يأخذ الإشارة (+) ويطلق عليه متشكّل يمينى dextrorotatory ، أما المتشكّل الآخر فيدير مستوى الضوء بنفس المقدار ولكن فى إتجاه اليسار (مضاد لإتجاه حركة عقرب الساعة) ولذلك يأخذ الإشارة (−) ويطلق عليه متشكّل يسارى levorot-atory . ولقد دلت نتائج دراسة التشكيل الفراغى المطلق على أن مجموعة OH على الذرة الكيرالية توجد على اليمين فى المتشكّل اليمينى ولذلك يرمز له بالحرف D ، أما المتشكّل اليسارى فيحتوى على مجموعة OH على اليسار ولذلك يرمز له بالحرف L.

وعليه فإن هذين المتشكّلين يسميان كالآتى D-(+)جليسرالدهيدو L-(−)جليسرالدهيد. وعندما يكون أحد المتشكّلان صوره للمرآه للآخر مثل D- و L - جليسرالدهيد فإن المتشكّلان يكونا من نوع انانتيومرز enantiomers واللذان يختلفان فقط فى التأثير على الضوء المستقطب فى مستو، ولكن لهما نفس الخواص الكيميائية والطبيعية الأخرى.

ويجب الإشارة إلى أن وجود مجموعة الهيدروكسيل على اليمين (D) أو اليسار (L) ليس له إرتباط بنوع الدوران الضوئى ما إذا كان دوران فى إتجاه عقرب الساعة (+) أو فى إتجاه مضاد لعقرب الساعة (−)، فالنشاط الضوئى خاصية مميزة تعكس تركيب الجزئ ككل.

يتم التعبير عن النشاط الضوئى للمتشكلات الفراغية كمياً بواسطة الدوران النوعى Specific rotatuion [α] والذى يتم تحديده من قياس درجة دوران مستوى الضوء المستقطب لمحلول من المتشكل النقى عند تركيز معين فى جهاز المقطاب Polarimeter:

$$[\alpha]_D^{25^\circ c} = \frac{\text{الدوران المشاهد (بالدرجة)}}{\text{طول الانبوبة (بالديسمتر)} \times \text{التركيز (جرام/ مل)}}$$

ويشير الحرف D إلى استخدام الخط الطيفى D للصوديوم الذى له طول موجى ٥٨٩ نانوميتر.

وبزيادة طول السلسلة الكربونية فى السكريات الأحادية يزداد عدد المراكز الكيرالية وتزداد بذلك عدد المتشكلات الفراغية والتى يمكن حساب عددها من العلاقة التالية:

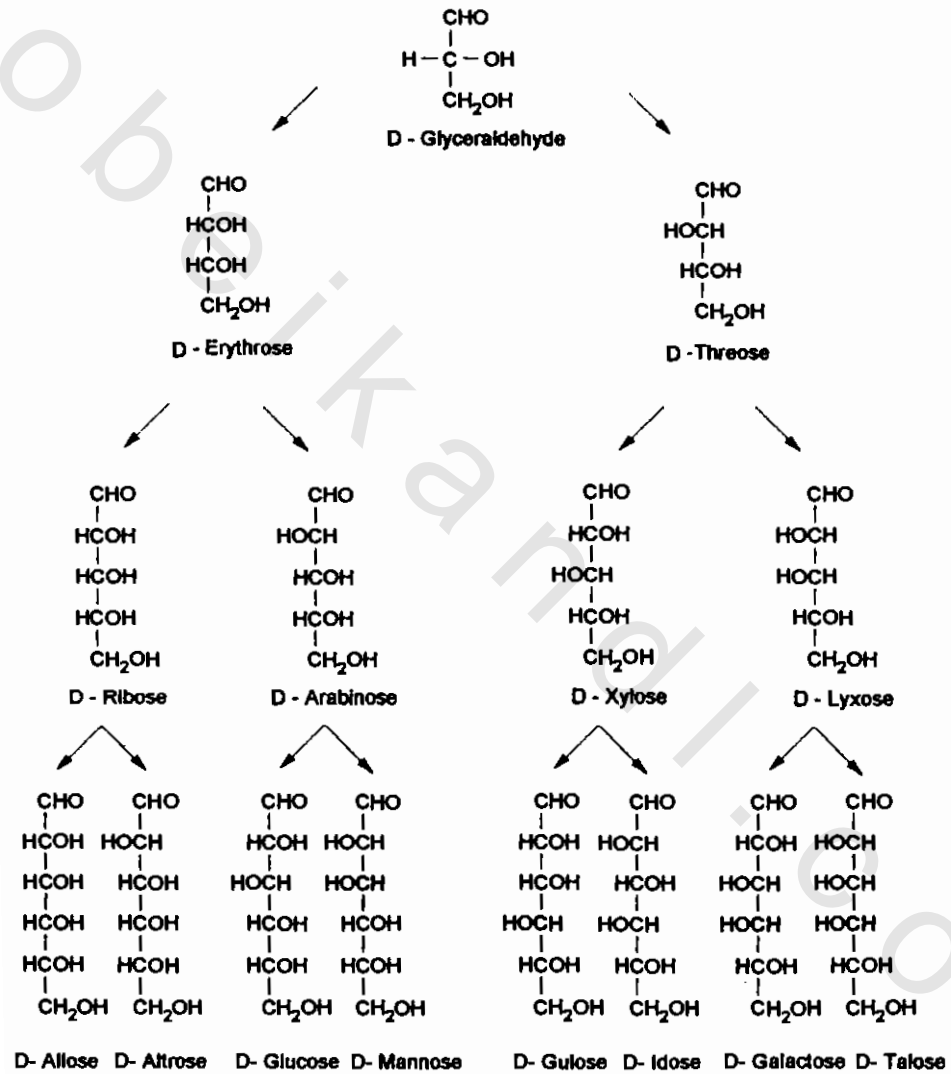
$$\text{عدد المتشكّلات الضوئية} = 2^n .$$

حيث تشير n إلى عدد ذرات الكربون الكيرالية. فالسكر الالدهيدى سداسى الكربون (الدوهكسوز) يحتوى على أربع مراكز كيرالية وبالتالى فله 2^4 = ١٦ تشكيل فراغى. ونصف هذا العدد يكون التشكيل الفراغى حول ذرة الكربون الكيراليه ذات أعلى رقم (أبعد ذره كربون كيراليه عن مجموعة الكربونيل) فى كل منها مثل التشكيل الفراغى حول الذره الكيراليه لجزئ D ـ(+)جليسرالدهيد، وتعرف هذه المجموعة من المتشكلات باسم مجموعة D . أما فى النصف الآخر من المتشكلات يكون التشيكل حول ذره

الكربون الكيرالية ذات أعلى رقم مثل التشكيل الفراغى لجزئى L- (ـ) ـ جليسرالدهيد وتعرف باسم مجموعة L . والسكر D هو صوره للمرآه للسكر L ويكون لهما نفس قيمة الدوران الضوئى لكن أحدهما يكون يمينى (+) والآخر يسارى (−). والشكل (٣ ـ ٣) يوضح مجموعة D- الدوترايوزات و D-الدوتتروزات و D-الدوبنتوزات و D-الدوهكسوزات. معظم السكريات المنتشرة فى الطبيعة هى سكريات من النوع D، واكثرها انتشاراً فى الكائنات الحية هى D- ريبوز و D- جلوكوز و D- مانوز و D- جالاكتوز.

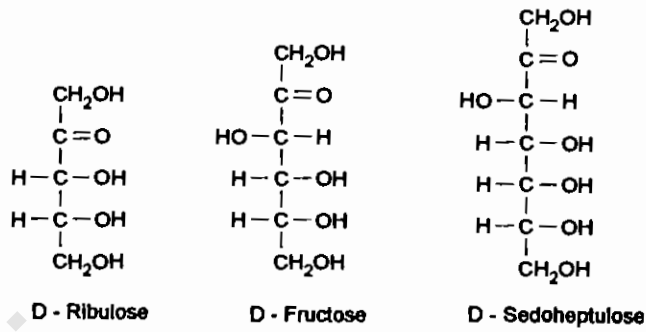
بنفس الطريقة يمكن كتابة البناء الفراغى للسكريات الكيتونية D ، وهذه السكريات لها أيضا نفس التشكيل الفراغى حول أبعد ذره كربون كيراليه عن مجموعة الكربونيل. تسمى السكريات الكيتونية بادخال المقطع يل (ul) فى اسم السكر الالدهيدى المقابل. مثال ذلك D-ريبيلوز D -ribulose هو السكر الكيتونى الخماسى الكربون المقابل للسكر الالدهيدى الخماسى D-ريبوز D -ribose، بالرغم من ذلك فان بعض السكريات الكيتونية لها أسماء عادية مثل السكر سداسى الكربون فركتوز. والسكريات الكيتونية ذات الأهمية البيولوجية تشمل السكر الكيتونى الخماسى D- ريبيلوز، والسكر السداسى الكربون D- فركتوز، والسكر الكيتونى سباعى الكربون D-هبتيلوز (شكل ٣ـ٤).

ولتحديد أنواع التشكُّل isomerism المختلفة فى السكريات دعنا نأخذ السكريات الأحادية الأربعة المدونه فى شكل (٣ ـ ٥) لتوضيح ذلك. جميع السكريات الأربعة هى سكريات D لأن لها نفس التوزيع الفراغى مثل D- جليسرالدهيد. D-فركتوز يعتبر متشكِّل تركيبى structural isomer للثلاثة سكريات الأخرى، فبالرغم من أن له نفس الصيغة الجزيئية ($C_6H_{12}O_6$) فإنه يحتوى على مجموعة كيتون بدلا من مجموعة الالدهيد التى توجد فى السكريات الثلاثة الأخرى. الثلاثة سكريات الالدهيدية هى مشابهات فراغية واكثر تحديداً مشابهات ضوئية optical isomers ، ونظر لأن لا أحد من هذه السكريات يكون enantiomer (صوره فى المرآه) لأى من السكريان الاثنين الآخران فإن نوع التشكُّل بينهما يكون من نوع diastereomers. وبذلك فإن هذه السكريات الثلاثة تختلف فى نقطة الغليان ونقطة التجمد وفى الذوبانية وفى الدوران النوعى كما تختلف فى خواصها الكيميائية.



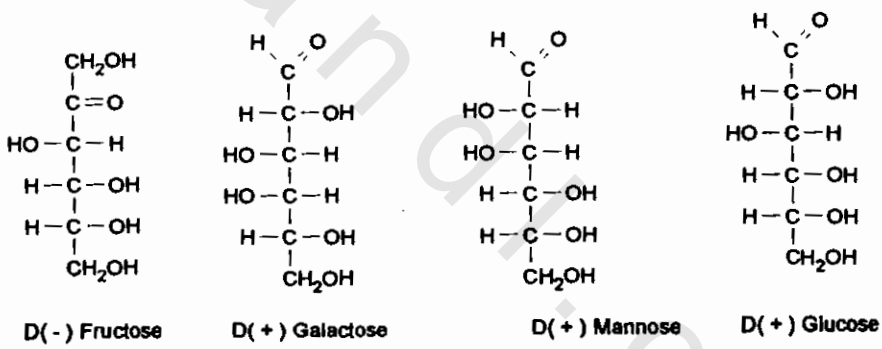
شكل ٣ ـ ٣

السكريات D-الالدهيديه (D- Aldoses)



شكل ٣ ـ ٤

السكريات الكيتونية المهمه بيولوجيا



شكل ٣ ـ ٥

تركيب أربعة من السكريات الأحادية لتوضيح أنواع التشكُل فيها.

D (+) جلوكوز يعتبر متشكل ابيمارى epimer لـ D (+) مانوز وذلك لانهما يختلفان فى التوزيع الفراغى حول ذره كربون واحدة (ذره الكربون الثانية).

السكريات الأحادية خماسية وسداسية الكربون توجد فى صورة حلقية

حتى هذه المرحلة قمنا بالتعبير عن تركيب السكريات الأحادية الالدهيدية والكيتونية فى

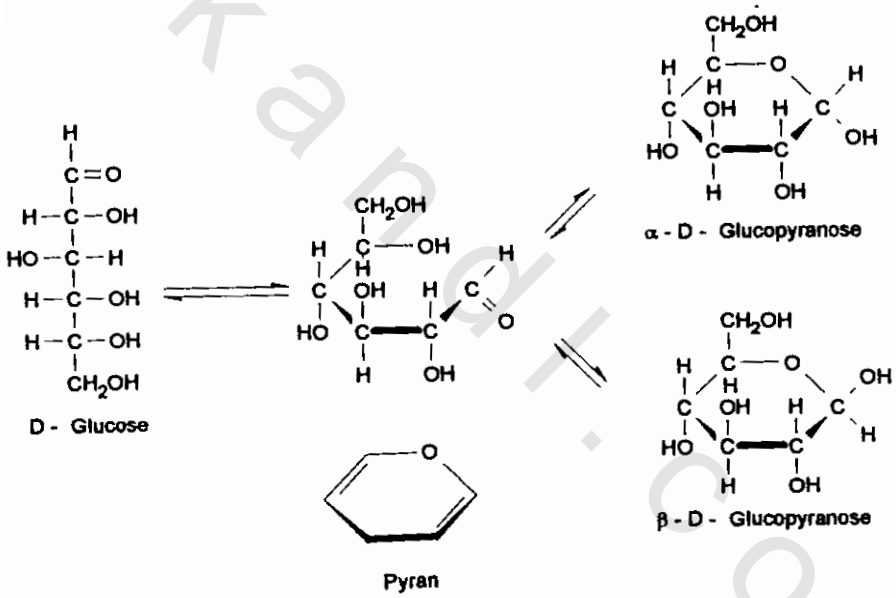
صورة سلاسل مفتوحة. بالرغم من أن مثل هذه الصيغ البنائية تعتبر صحيحه للسكريات ثلاثية ورباعية الكربون، فإن هناك بعض الدلائل التى تشير إلى أن السكريات الأحادية التى تحتوى على خمس ذرات أو ست ذرات كربون توجد فى صورة هيمى أسيتال حلقية والتى لا تحتوى على مجموعة كربونيل حره ولكنها توجد فى حالة إرتباط تساهمى مع أحد مجموعات الهيدروكسيل فى السلسلة. دعنا نأخذ D- جلوكوز نموذج لذلك:

(١) إذا كان جزئ الجلوكوز يحتوى على مجموعة الدهيد حره فإننا نتوقع أن يدخل فى تفاعلات الألدهيدات المعروفه. واذا كان ذلك صحيحا إلى حد ما فهو يتأكسد بمحلول بندكت أو محلول فهلنج، إلا أن تفاعله مع الميثانول وغاز كلوريد الهيدروجين يؤدى إلى إدخال مجموعة (OCH_3-) واحده فى حين أن الألدهيدات العادية ترتبط بمجموعتى (OCH_3-) وتتحول إلى أسيتال acetal .

(٢) هناك فى الواقع صورتان من D- (+) جلوكوز نحصل عليهما بالتبلور فى مذيبات مختلفه، ويعرفان بالاسماء α-(D)-جلوكوز و β-(D)جلوكوز قيمتا الدوران النوعى لهما +١١٢,٢° و+١٨,٧° على التوالى. واذا اذيب أى من هاتين الصورتين فى الماء وتتبعنا دوران المحلول نجده يتغير باستمرار إلى أن يصل إلى قيمة ثابتة هى +٥٢,٧°، وظاهره التغير هذه توصف بالدوران الذاتى mutarotation.

ولتفسير هذه المشاهدات أُقترح تركيب هيمى أسيتال hemiacetal حلقى للجلوكوز الذى ينشأ بتفاعل داخلى بين كربون الالدهيد واكسجين الهيدروكسيل على ذره الكربون الخامسة الذى ينتج حلقة سداسية غير متجانسة (شكل ٣ ـ ٦). ومن هنا ندرك أن التفاعل مع الميثانول لا يعدو إلاً أن يكون استكمال تحول هيمى أسيتال إلى اسيتال. واذا كان معظم الجلوكوز موجوداً فى صوره هيمى أسيتال إلاً أنه فى حالة إتزان مع نسبه صغيره من الصوره الالدهيديه المفتوحة، وهذا يفسر تأكسده وسائر تفاعلاته الأخرى التى يجارى فيها الالدهيدات. فعند تفاعل بعض جزيئات البناء المفتوح يتكون بدلا منها نتيجة تحول البناء الحلقى إلى البناء المفتوح ويستمر ذلك إلى أن يستنفذ كل الجلوكوز فى التفاعل.

تحوُّل البناء المفتوح إلى البناء الحلقى يؤدى إلى تكوين ذره كربون كيراليه جديدة هى ذره الكربون الأولى ولذلك ينتج متشكّلان من نوع دياستريومر diastereomers، فى أحدهما تكون مجموعة الهيدروكسيل على ذره الكربون الأولى استوائية equatorial (فى مستوى الحلقة) ويعرف هذا الدياستريومر باسم β-D- جلوكوز، وفى الثانى تكون مجموعة الهيدروكسيل محورية axial (عموديه على مستوى الحلقة) ويعرف هذا المتشكّل باسم α-D-جلوكوز، ولكنهما لا يتكونان بتركيز متساوى لأن أحدهما اكثر ثباتا من الآخر.



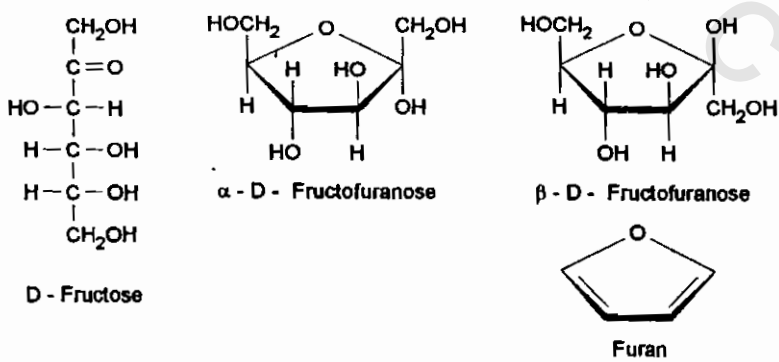
شكل ٣ ـ ٦

تكوين صوره هيمى اسيتال الحلقية للجلوكوز نتيجة للتفاعل الداخلى بين كربون الالدهيد واكسجين الهيدروكسيل على C_5

مثل هذان الدياستريومران الذى ينحصر اختلافهما فى الوضع الفراغى حول ذره كربون هيمى أسيتال (C_1) يدعيا متشكّلات أنوماريه anomers، كما توصف ذره

الكربون هذه بالذره الانوماريه anomeric atom . واذا كان هيمى اسيتال تم بتكوين حلقة سداسية غير متجانسة فإن ذلك يظهر فى اسم الجلوكوز وذلك باستعارة لفظ يستند إلى اسم المركب سداسى الحلقة بيران Pyran وهو بيرانوز pyranose الذى يوضع بعد اسم السكر. مثال ذلك الجلوكوز الذى يوجد فى صوره حلقة سداسية يسمى جلوكو ـ بيرانوز glucopyranose ، والسكريات الالدهيديه السداسية توجد أيضا فى صوره حلقية خماسية، ونظرا لأن الصوره الحلقية الخماسية مشابهه للمركب فيوران Furan فتدعى السكريات فيورانوز Furanose. ومع ذلك فان السكريات الألدهيديه السداسيه فى الصوره الحلقية السداسيه أثبت بكثير عن الصوره الحلقية الخماسية ولذلك تكون سائدة فى محاليل السكريات الالدهيديه السداسيه. السكريات الالدهيديه خماسية الكربون من ناحية أخرى توجد فى صوره حلقة خماسيه مثال ذلك ريبوفيورانوز.

السكريات الكيتونيه سداسيه الكربون توجد أيضا فى الصوره الأنوماريه α و β. وفى هذه المركبات فإن مجموعة الهيدروكسيل على ذره الكربون الخامسة تتفاعل مع مجموعة الكربونيل على ذره الكربون الثانية مكونه حلقة فيورانوز تحتوى على رابطة هيمى أسيتال، فمثلا D- فركتوز يوجد له أنومران حلقيان هما D-α- فركتوفيورانوز و - D-β فركتوفيورانوز (شكل ٣ ـ ٧).



شكل ٣ ـ ٧

الصورة الحلقية الخماسية للفركتوز

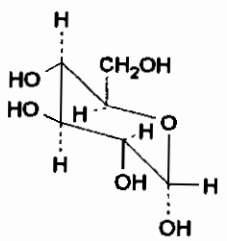
صيغة هاورث Haworth Formula

فى صيغة هاورث يتم التعبير عن السكريات فى الصورة الحلقية البيرانية والفيورانية بحلقه سداسيه وخماسيه الزاويا على التوالى وتكون الذرات المكونه للحلقة السداسيه أو الخماسيه فى مستوى عمودى على مستوى الورقه أما المجموعات الكيميائية المرتبطة بهذه الذرات فتكون فى مستوى الورقه.

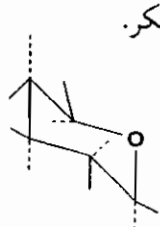
الهيئة الفراغية للسكريات الأحادية تأخذ صورة الكرسى أو القارب

بالرغم من ان صيغه هاورث تستخدم عاده لتوضيح الصوره الحلقية للسكريات الأحادية (أشكال ٣ ـ ٦ و ٣ ـ٧) إلا أنها تشير إلى أن الجزئ مستوى. لكن الحقيقة أن الجزئ الحلقى ينثنى بشكل ما لتخفيف الإجهاد الزاوى torsional strain (أى إرتفاع طاقة الجزئ بسبب الحيود عن الزاوية الهرمية الرباعية) والاعاقه التجسُّميَّه steric hin-drance الناجم عن وجود ذرات الهيدروجين والأكسجين فى أوضاع منكسفه eclipsed . لذلك فإن الجزئ يتخذ هيئة تكون فيها الذرات على ذرات الكربون المتجاورة فى أوضاع متبادلة staggered ، كما أن جميع الزوايا تكون هرميه رباعيه.

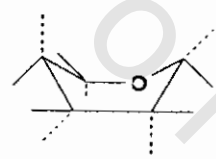
ومعظم السكريات فى الصورة الحلقية السداسية توجد فى هيئة الكرسى chair form ، ولكن البعض قد يوجد فى هيئة القارب boat form وهذه الصور تعبر عن صيغ الهيئة conformation form (شكل ٣ ـ ٨) والتى تعتبر ذات أهميه فى تحديد الخواص البيولوجية والوظيفية لبعض عديدات السكر.



α-D-جلوكوبيرانوز



هيئة الكرسى



هيئة القارب

شكل ٣ ـ ٨

صيغ الهيئة: الكرسى والقارب، و α-D-جلوكوبيرانوز فى هيئة الكرسى

السكريات الأحادية لها خواص إختزاليه

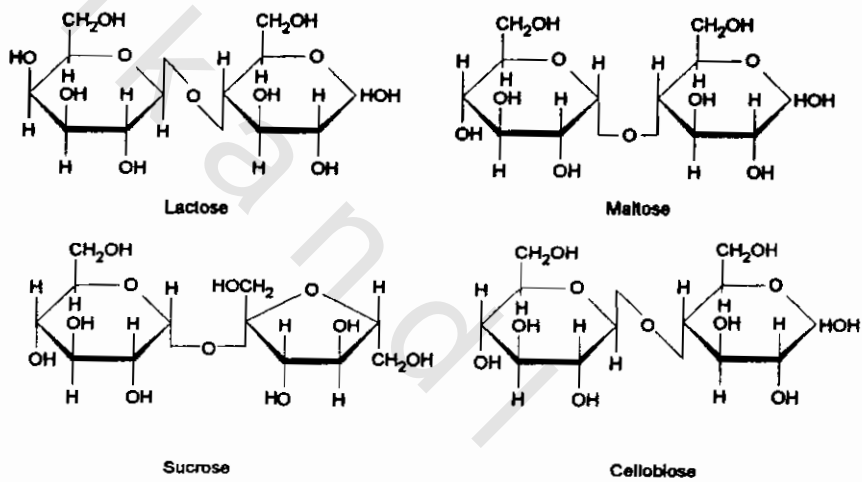
رغم أن السكريات الأحادية توجد فى صوره هيمى أسيتال حلقى، إلا أن هناك دائما تركيزاً قليلا من البناء المفتوح الذى يوجد فى حالة إتزان مع البناء الحلقى، لذلك تتأكسد مجموعة الألدهيد الحره بالعوامل المؤكسده المعتدله مثل سيانيد الحديديك وأيون النحاسيك ويمد الإتزان النظام بصوره البناء المفتوح كلما تأكسد جزء منه. وفى مثل هذه التفاعلات فإن العامل المؤكسد يختزل بواسطة السكريات الأحادية التى تعتبر فى هذه الحالة عوامل أو سكريات مختزلة. هذه الخاصية ذات فائدة فى التحليل الكمى للسكريات الأحاديه، فبتقدير كمية العامل المؤكسد التى أُختزلت بواسطة محلول من السكر فإنه يمكن حساب كميه السكر. وبهذه الطريقة فإنه يمكن تحليل الانظمة الحية لمحتواها من السكريات المختزله بعد إستخلاصها من هذه الأنظمة. فتقدير سكر الجلوكوز فى الدم والبول هو أحد الوسائل المهمة فى الكشف عن مرض السكر.

المالتوز والسكروز واللاكتوز هى السكريات الثنائية الشائعة

تتألف السكريات الثنائية من وحدتين لسكر أحادى واللذان يرتبطان ببعضها بواسطه إرتباط تساهمى. وفى معظم السكريات الثنائية فإن الرابطة الكيميائية التى تربط وحدتى السكر الأحادى تسمى الرابطة الجلايكوسيدبه glycosidic bond التى تتكون بتفاعل مجموعه هيدروكسيل فى سكر مع مجموعة الهيدروكسيل على ذره الكربون الأنومارية فى السكر الآخر. وتتميأ الروابط الجلايكوسيديه بسهوله بواسطة الأحماض ولكنها تقاوم التفكك بالقواعد، لذلك فإنه يمكن تفكيك السكريات الثنائية إلى عناصرها من السكريات الأحادية بالغليان مع الأحماض المخففه.

وتنتشر السكريات الثنائية فى الطبيعة، وأكثرها سيوعاً سكروز succrose ولاكتوز lac-tose ومالتوز maltose . والمالتوز هو أبسط السكريات الثنائية ويحتوى على وحدتين من D-جلوكوز يرتبطان ببعضهما بواسطة الارتباط الجلايكوسيدى بين ذره الكربون الانومارية (C_1) فى أحد الوحدتين وذره الكربون الرابعة (C_4) فى وحدة الجلوكوز الأخرى

(شكل ٣ ـ ٩). ويطلق على هذا الارتباط بالارتباط الجلايكوسيدى α (١←٤) وذلك لان ذره الكربون الأولى (C_1) الداخله فى الارتباط الجلايكوسيدى توجد فى الهيئة الفراغية α (الفا) أما ذره الكربون الأولى فى السكر الآخر والتى لا تدخل فى الارتباط يمكن ان توجد فى الصورة α (الفا) أو β (بيتا). والمالتوزسكر مختزل لانه يحتوى على مجموعة هيمى أسيتال حره توجد فى حالة إتزان مع البناء المفتوح. ينتج سكرمالتوز من انحلال النشا بواسطة انزيمات أمايلاز amylase ، أما المالتوز ذاته فيمكن أن يتحلل مائيا بواسطة انزيم مالتاز maltase إلى وحدتين من D - جلوكوز.



شكل ٣ ـ ٩
السكريات الثنائية الشائعة

السيلُوبيوز cellobiose سكر ثنائى يحتوى أيضا على وحدتين من D- جلوكوز ولكن يختلف عن المالتوز فى احتوائه على الارتباط الجلايكوسيدى β (١ ← ٤)، ويتحصل على سيلُوبيوز من تفكك السليلوز بواسطة انزيم السليولاز cellulase.

السكر الثنائى لاكتوز الذى يتألف من D -جلوكوز و D- جالاكتوز يوجد فقط فى لبن الثدييات وفى بعض الفطريات ويحتوى على الارتباط الجلايكوسيدى β (١ ← ٤)، ونظرا لأنه يحتوى على مجموعه هيمى أسيتال فى وحده الجلوكوز فإنه يُظهر سلوكا

مختزلا ودورانا ذاتياً. ويتميأ لاكتوز إنزيميا بواسطة لاكتاز lactase فى الخلايا المخاطية المعوية، وهذا الانزيم يكون نشط جداً فى الاطفال الرضع ويقل نشاطه بعد ذلك فى كثير من المجموعات البشريه، ولذلك فإن الأشخاص فى هذه المجموعات تبدى حساسية تجاه اللاكتوز lactose intolerance وذلك لعدم انحلاله وامتصاصه ومن ثم تراكمه فى الأمعاء الدقيقة.

السكروز سكر ثنائى يتألف من α- D- جلوكوز و β-D-فركتوز مرتبطان بالارتباط الجلايكوسيدى α (١ ← ٢)، ولذلك فإن سكروز سكر غير مختزل ولا يبدى ظاهره الدورانى الذاتى وذلك لدخول ذرتى الكربون الانوماريتين فى وحدتى السكر الأحادى فى الارتباط الجلايكوسيدى. يتحصل على السكروز تجاريا من قصب السكر أو البنجر، وفى معظم النباتات يمثل السكروز الصوره الأساسية لنقل الطاقة والكربون من خلايا البناء الضوئى إلى الخلايا التى لا تقوم بعملية البناء الضوئى. واختيار السكروز بدلا من الجلوكوز وهو الناتج الأول لعملية البناء الضوئى قد يرجع إلى الرابطة α (١ ← ٢) التى لا تتأثر بانزيمات الأكسدة والتميؤ اثناء عملية النقل حتى يصل إلى موضع تمثيله.

يتميأ السكروز إلى D-جلوكوز و D-فركتوز بواسطة إنزيم سكريز succrase (يُدعى أيضا انفرتيز invertase) الذى يوجد فى الخلايا المبطنه للأمعاء الدقيقة وفى النباتات.

عديدات السكر تحتوى على عدد كبير من السكريات الأحادية وتقوم إما بوظائف بنائية أو تمثل صورة مخزنة للطاقة

معظم الكربوهيدرات المنتشرة فى الطبيعة توجد فى صوره عديدات السكر وهى جزيئات ذات وزن جزيئى كبير تتكون من إرتباط عدد كبير من السكريات الأحادية، فهى مبلمرات للسكريات الأحادية. وبالتميؤ الكامل بواسطة الأحماض أو بإنزيمات متخصصة فإن عديدات السكر تنتج سكريات أحادية أو مشتقاتها.

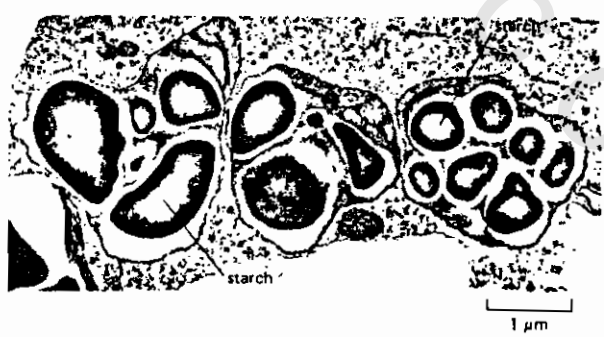
تختلف عديدات السكر فى طبيعة وحدات السكر الأحادى المتكرره ونوع الرابطه وطول السلسله ودرجة التفرع. ويوجد نوعان من عديدات السكر: عديدات السكر

المتجانسة والتى تحتوى فقط على نوع واحد من الوحدات البنائية، وعديدات السكر غير المتجانسة والتى تحتوى على نوعين أو اكثر من الوحدات البنائية. وعديدات السكر بصوره عامه ليس لها وزن جزيئى محدد كما فى البروتين، ولكنها تحتوى عاده على مخلوط من جزيئات تختلف فى وزنها الجزيئى .لذلك يعبر عن وزنها الجزيئى بمتوسط الوزن الجزيئى.

عديدات السكر إما تُمثل صوره مخزنه للطاقة مثل النشا فى النباتات والجلايكوجين فى الحيوانات والفطريات، أو تقوم بوظيفة تركيبية فى البناء المادى لجدر الخلايا والأنسجة الضامة مثل السليلوز فى جدر الخلايا النباتية وحمض الهيالورونيك hyaluronic فى الأنسجةالضامة.

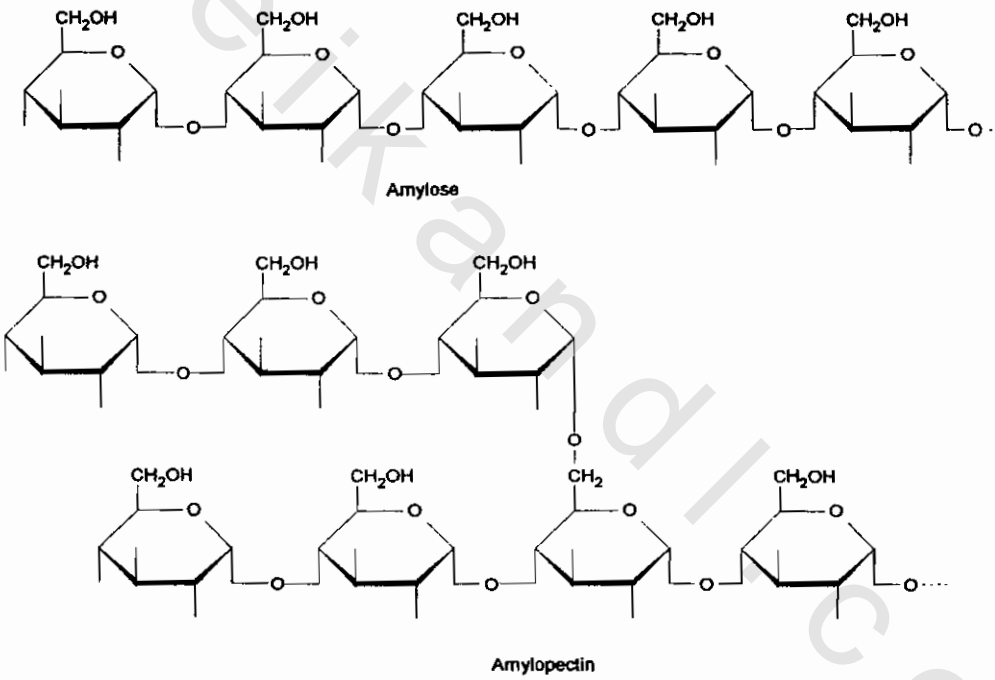
النشا هى عديد السكر التى تخزن فى النباتات

تعتبر النشا starch اكثر عديدات السكر المخزنة أهميه فى الطبيعة فهى تُمثل المخزون الغذائى للنباتات، ولكنها فى هذه الصوره تُمثل أيضا أحد عناصر التغذيه الرئيسية للحيوانات.ورغم أن النشا تنتشر أساساً فى الدرنات مثل البطاطس وفى البذور خاصه الأذره والقمح، فإن معظم خلايا النباتات لها القدره على بناء النشا. توجد النشا فى صوره حبيبات كبيره فى البلاستيدات إما فى الكلوروبلاست وهى موضع تثبيت الكربون أو فى الأمايلوبلاست وهى بلاستيدات متخصصه فى تخزين النشا (شكل ٣ – ١٠). وتحتوى



شكل ٣ ـ ١٠
ثلاثة من أمايلوبلاست وهى البلاستيدات المخزنه للنشا فى خلايا قمه جذور فول الصويا

النشا على مكونين يُمكن فصلهما، أحدهما يذوب فى الماء الساخن ويُدعى α - أمايلوز amylose - α، والآخر لا يذوب فى الماء ويُدعى أمايلوبكتين amylopectin. يتكون جزئ α - أمايلوز من سلسله طويله غير متفرعه من وحدات D- جلوكوز التى ترتبط ببعضها بواسطة الروابط الجلايكوسيديه α (١ ← ٤) (شكل ٣ ـ ١١)، وتختلف سلاسل α - أمايلوز فى عدد وحدات الجلوكوز التى تتراوح بين ٦٠ إلى ٣٠٠ وحده.



شكل ٣ ـ ١١

أمايلوز وأمايلوبكتين وهما مكونات النشا

الأمايلوبكتين جزئ متفرع (شكل ٣ ـ ١١)، وبينما ترتبط وحدات D- جلوكوز بالرابطة α (١ ← ٤) فى السلسله الرئيسية فإن مناطق التفرع فى جزئ الأمايلوبكتين تحتوى على الرابطة α (١ ← ٦). والوزن الجزيئى للأمايكوبكتين كبير جداً قد يصل إلى مليون.

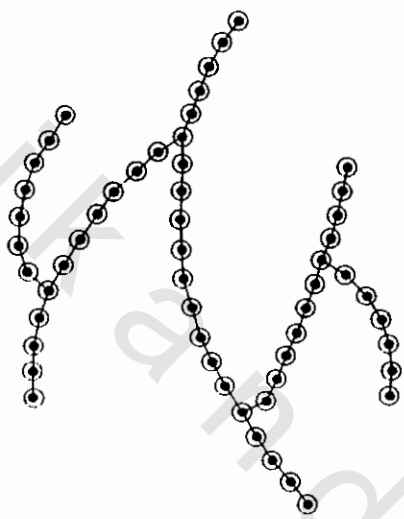
أكثر من نصف الكربوهيدرات التى يتناولها الإنسان تكون فى صوره نشا. وكل من الأمايلوز والأمايلوبكتين تتميأ بواسطة إنزيم α- أمايلاز α- amylase الذى يفرز من الغدد اللعابية والبنكرياس. فيقوم إنزيم α -أمايلاز بتفكيك الإرتباط الجلويكوسيدى α (١←٤) عشوائيا فى سلسله الأمايلوز مع تكوين مخلوط من جلوكوز ومالتوز. ويقوم انزيم α ـ أمايلاز أيضا بتفكيك الروابط α (١←٤) الطرفية فى الأمايلوبكتين ولكنه لايستطيع تفكيك الروابط α (١←٤) القريبة من نقط التفرع وكذلك الروابط α (١←٦) فى مناطق التفرع، ولذلك فإن ناتج التميؤ بهذا الإنزيم هو D- جلوكوز وكميه صغيره من المالتوز وجزيئيات شديدة التفرع تدعى الدكسترين المحدود limited dextrine. ويقوم إنزيم آخر هو α (١←٦) جلوكوسيدير glucosidase α (1→ 6) بتفكيك الروابط α (١←٦) فى نقط التفرع وبذلك يسمح لإنزيم أمايلاز بتفكيك الروابط α (١←٤) المتبقية. وعلى ذلك فإن التأثير المشترك لأنزيمى α – أمايلاز وα (١←٦) جلوكوسيدير هو تحويل الأمايلوبكتين إلى D- جلوكوز ومالتوز.

إنزيم β – أمايلاز الذى يوجد فى المولت (الشعير المنبت) يختلف عن α – أمايلاز فى أنه يقوم بتفكيك الروابط α (١←٤) بالتبادل من الطرف غير المختزل، وبذلك ينتج أساساً مالتوز وكميه صغيره من D- جلوكوز.

الجلايكوجين هو عديد السكر المخزن فى الحيوانات

الجلايكوجين glycogen هو نوع آخر من عديدات السكر الذى يخزن فى خلايا الكبد والعضلات فى الحيوانات كمخزون إحتياطى للطاقة. ويوجد الجلايكوجين فى الكبد فى صوره حبيبات كبيره منتشره فى السيتوبلازم والتى تتكون بدورها من حبيبات صغيره وهذه يتكون كل منها من جزئ جلايكوحين وهو جزئ على درجة كبيره من التفرع ويصل وزنه الجزيئى إلى عده ملايين. يوجد الجلايكوجين أيضا فى الفطريات حيث يستخدم كمخزون للطاقة فى هذه الكائنات.

يماثل الجلايكوجين الامايلوبكتين من ناحية التركيب غير أنه أكثر تفرعا، فيحدث التفرع كل ٨ ـ ١٢ وحده جلوكوز (شكل ٣ ـ ١٢). ترتبط وحدات الجلوكوز فى المناطق غير المتفرعه فى جزئ الجلايكوجين بالرابطة α (١←٤)، أما فى نقط التفرع فإن الإرتباط يكون α (١←٦).



شكل ٣ ـ ١٢

مخطط لقطاع فى جزئى الجلويكوجين

يتميأ الجلايكوجين فى القناة الهضمية بواسطة إنزيمى α أمايلاز و α (١←٦) جليكوسيديز ويكون الناتج هو D- جلوكوز ومالتوز وهو فى ذلك يشابه الأمايلوبكتين. أما فى الخلايا الحيوانيه والفطريات فإن الجلايكوجين يتفكك بإنزيم آخر هو جلايكوجين فوسفوريليز glycogen phosphorylase الذى يفكك الجلايكوجين إلى جلوكوز ١ ـ فوسفات وليس إلى الجلوكوز الحر.

السليلوز هو العنصر التركيبى الأساسى فى جدر الخلايا النباتية

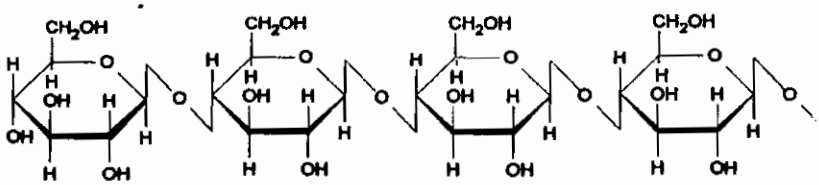
كثير من عديدات السكر تعمل كعناصر تركيبية فى البناء الخارجى للخلايا وذلك

فى الجدر الخلوية للكائنات وحيدة الخلية والنباتات الراقية والغلاف الخارجى للخلايا الحيوانية. والبعض الآخر من عديدات السكر تعمل كعناصر تركيبية فى الأنسجة الضامة فى الفقاريات وفى الهيكل الخارجى فى الكائنات مفصلية الأرجل. فعديدات السكر البنائية تعمل على إعطاء الحماية والشكل والدعامة للخلايا والأنسجة الحية.

السليلوز cellulose هو اكثر عديدات السكر انتشاراً فى الطبيعة، كما أنه أكثر المركبات العضوية التى تنتجها الكائنات الحية على الإطلاق. والسليوز وهو مادة ليفية غير ذائبة فى الماء يوجد فى جدر الخلايا الوقائية للنباتات خاصة السيقان والجذوع وكل الأجزاء الخشبية فى الأنسجة النباتية. فهو يشكل حوالى نصف ماده الخشب بينما القطن تقريبا عبارة عن سليلوز نقى.

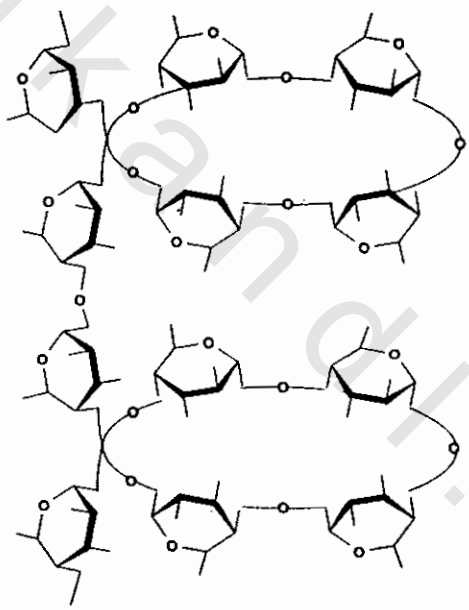
السليلوز عديد سكر متجانس حيث يتكون من سلسلة مستقيمه غير متفرعه تحتوى على ١٠,٠٠٠ أو أكثر من وحدات D- جلوكوز التى ترتبط ببعضها بواسطة الروابط الجلايكوسيديه β (١←٤). وقد يظهر من ذلك أنه يشبه فى تركيبه أمايلوز، لكن الحقيقة هناك اختلاف جوهرى فى أن الارتباط (١←٤) فى السليلوز يوجد فى الهيئة الفراغية (β) بينما هى (α) فى الأمايلوز والأمايلوبكتين والجلايكوجين. وهذا الاختلاف والذى يظهر أنه اختلاف بسيط فى تركيب السليلوز وأمايلوز يؤدى إلى تكوين مبلمران يختلفان فى خواصهما بدرجة كبيرة. فالرابطة β (١←٤) فى السليلوز تؤدى إلى تكوين سلاسل ممتده والتى تتجمع عن طريق الروابط الهيدروجينية مكوِّنه الياف دقيقة (شكل ٣ ـ ١٣). من ناحية أخرى، فإن الارتباط α (١←٤) فى النشا والجلايكوجين يؤدى إلى تكوين هيئة حلزونية تكون مناسبة لتكوين حبيبات كُرِيه (شكل ٣ ـ ١٣).

فى حين تستطيع انزيمات α - أمايلاز فى الفقاريات أن تشطر إرتباطات α (١ ←٤) فى النشا والجلايكوجين، فإنها لا تستطيع شطر إرتباطات β (١←٤) فى السليلوز، لذلك فإن هذا المستودع الكربوهيدراتى الهائل الذى يحتوى على اكثر من نصف الكربون العضوى لا يستفاد منه فى تغذيه معظم الحيوانات الراقية. لكن هناك أنواعاً



(أ)

(ب)



(جـ)

شكل ٣ ـ ١٣

تركيب السليلوز والهيئات الفراغية المختلفة للسلاسل α (١ ← ٤) للسليلوز والسلاسل α (١←٤) فى النشا والجلايكوجين

أ ـ جزء من سلسلة جزئ السليلوز الذى يحتوى على الرابطة α (١ ← ٤) .

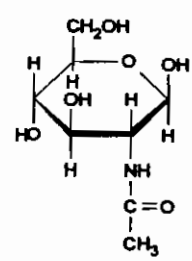
ب ـ مخطط بيانى يوضح سلاسل السليلوز المتوازيه التى ترتبط مع بعضها بواسطة الروابط الهيدروجينيه

جـ ـ مخطط بيانى لجزئ الأمايلوز الذى يحتوى على الروابط α (١ ← ٤) التى تؤدى إلى هيئة حلزونية

من البكتريا والحيوانات المجهرية التى لها القدره على تميؤ السليلوز إلى D- جلوكوز. فالنمل الأبيض يهضم السليلوز وذلك لأنه يأوى فى قناته الهضمية أحد الكائنات الدقيقة (Trichonympha) والتى تفرز السليولاز cellulase وهو الإنزيم المحلل للسليلوز وبذلك تـمكّن النمل الأبيض من هضم الخشب. الفطريات والبكتريا التى تقوم بتعفن الخشب تنتج أيضا انزيم السليولاز.

الأبقار والحيوانات المجترة الأخرى هى الفقاريات الوحيد التى تستطيع إستخدام السليلوز كماده غذائية بطريق غير مباشر. فمعده هذه الحيوانات تكون بيئة مناسبة لنمو أنواع من الكائنات الدقيقة التى تفرز إنزيم السليولاز الذى يفكك السليلوز إلى - Dجلوكوز، والذى يتخمر بدوره إلى أحماض دهنية قصيرة السلسلة خاصة البروبيونيك وثانى اكسيد الكربون والميثان الغازى. والأحماض الدهنية الناتجة والتى تمتص فى الدوره الدمويه للحيوانات المجتره تمثل المصدر الأساسى للكربون والطاقة لهذه الحيوانات.

وكيتين chitine مبلمر متجانس خطى يتكون من إرتباط وحدات N-أسيتايل D-جلوكوز أمين N- acetyl-D -glucosamine بالروابط β (١←٤) هو عديد السكر البنائى الذى يوجد فى غلاف أو الهيكل الخارجى للسرطانات البحرية وكثير من الحشرات، وهو بذلك يشبه سليلوز ما عدا أن المجموعة المستبدله على ذره الكربون الثانية (C_2) هى مجموعة أمين مـؤسـتله (شكل ٣ ـ ١٤).



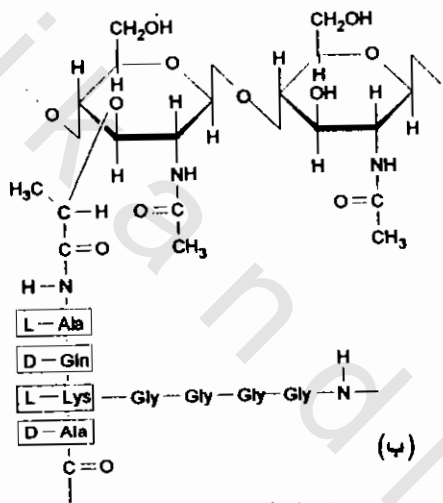
N - acetyl - D - Glucoseamine

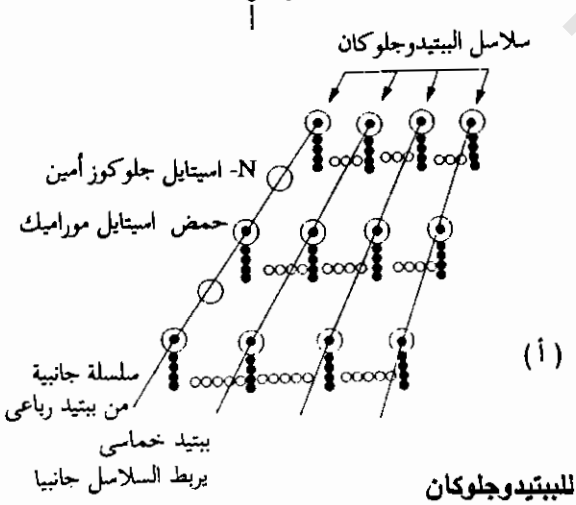
شكل ٣ ـ ١٤

N- أسيتايل D- جلوكوز أمين وهو الوحده البنائية للكيتين وعدد آخر من عديدات السكر البنائية

ببتيدوجلوكان هو العنصر البنائى فى جدر الخلايا البكتيرية

الخلايا البكترية بالمقارنة بالخلايا الحيوانية تحاط من الخارج بجدر خلوية والتى تعطى الدعامة الميكانيكية والشكل العام للخلايا، كما أنها تحدد كثيرا من الخواص الفسيولوجية للبكتريا. يحتوى جدار الخلية البكترية والذى يغلف الغشاء الخلوى من الخارج على سلاسل من عديدات السكر المتوازية التى ترتبط ببعضها على مسافات فاصلة بارتباطات مستعرضة من عديد الببتيد (شكل ٣ـ١٥). ونظرا لأن السلسلة الببتيدية قصيره وليست





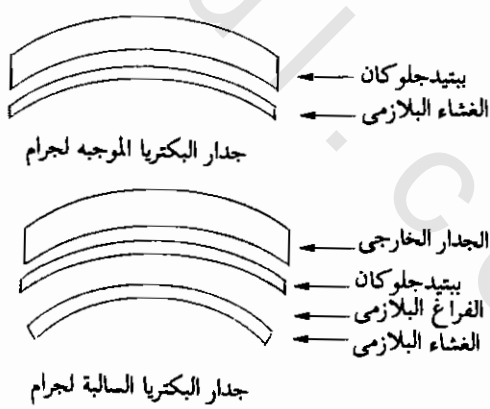
شكل ٣ ـ ١٥

(أ) مخطط توضيحى للببتيدوجلوكان

(ب) وحدة البناء الأساسية فى الببتيدوجلوكان فى Staphylococcus aureus

كبيره كما فى البروتين فإن هذا البوليمر polymer يدعى ببتيدوجلوكان peptidoglu-can والذى يشير إلى الطبيعة المهجنه للبوليمر وهو إحتوائه على عنصر ببتيد وعنصر عديد السكر. تتكون سلسلة عديدات السكر من وحدات سكر أحادى متبادلة من N- أسيتايل D- جلوكوز وحمض N- أسيتايل موراميك اللذان يرتبطان بالإرتباط الجلايكوسيدى β (١←٤) (شكل ٣ ـ ١٥). ويتصل بكل وحده حمض أسيتايل موراميك سلسلة جانبية من ببتيد رباعى. كما أن سلاسل عديد السكر المتوازية ترتبط عرضيا ببعضها بواسطة سلاسل من عديد الببتيد والتى تختلف فى تركيبها من نوع إلى آخر.

ففى البكتريا الكروبه العنقودية staphylococcus aureus التى تسبب تقيح الأنسجة مثل الجلد والعظم والرئه فإن الببتيد الرباعى يتألف من L- الآنين و D- جلوتامين و L- لايسين و D-الآنين، بينما ترتبط وحدات حمض N-أسيتايل موراميك فى عديدات السكر المختلفة بواسطة ببتيد خماسى يحتوى فقط على جليسين. ومنذ أكثر من نصف قرن صُنِّفت البكتريا إلى موجبة لجرام وسالبه لجرام بناء على تفاعلها مع صبغه جرام. وهذان النوعان من البكتريا لهما جدار خلوى مختلف (شكل ٣ ـ ١٦)، فالغشاء



شكل ٣ ـ ١٦

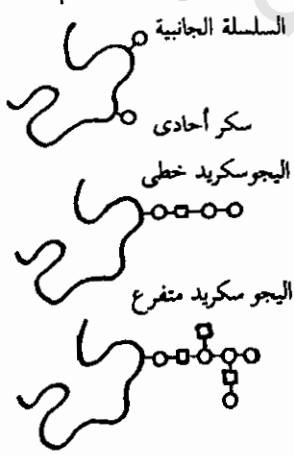
مخطط بيانى يُوضح الفرق بين تركيب غلاف الخلايا البكتيرية الموجبة والسالبة لجرام

البلازمى فى البكتريا الموجبة لجرام يحاط بجدار سميك يبلغ سمكه ٢٥٠ أنجستروم

الذى يحتوى على ببتيدوجلوكان وحمض تيكويك teichoic acid . بينما فى البكتريا السالبه لجرام مثل بكتريا القولون فإن طبقه الببتيدوجلوكان تحاط بغلاف خارجى يحتوى على بروتين وليبيدات وعديد السكر الليبيديه lipopolysaccharide . ومن المعروف أن الجدار الخلوى السليم يشكل أساس لحمايه ونمو وانقسام البكتريا. مع ذلك فإن البنسلين وهو أحد المضادات الحيوية الهامة فى معالجة الإصابة البكتيريه يثبط الخطوه الأخيرة فى البناء الانزيمى للببتيدوجلوكان فى الكائنات الحساسه للبنسلين وبذلك يتوقف البناء الكامل للجدار الخلوى وتفشل بذلك البكتريا فى استكمال نموها وانقسامها.

غلاف الخلايا الحيوانية يحتوى على جلايكوبروتين

الجلايكوبروتينات glycoproteins هى بروتينات ترتبط تساهميا بجزء كربوهيدراتى الذى قد يكون سكراً أحاديا مفرداً أو سكر أليجو قصير نسبيا (شكل ٣ ـ ١٧) والذى تتراوح نسبته بين ١ ٪ إلى ٦٠ ٪. وبعض الجلايكوبروتينات تحتوى فقط على واحد أو عدد قليل من المجموعات الكربوهيدراتيه والبعض الآخر يحتوى على عدد كبير من السلاسل الجانبيه. توجد الجلايكوبروتينات وتقوم بوظائفها إمّا على سطح الخلايا فى الاغلفة الخلويه أو خارج الخلايا كما فى بلازما الدم.



شكل ٣ ـ ١٧

ثلاثة أنواع من الجلايكوبروتينات التى تختلف فى حجمها ومحتواها من سلاسل الكربوهيدرات الجانبية

من الجلايكوبروتينات التى تقوم بوظيفه غير عاديه هى تلك الجلايكوبروتينات التى توجد فى بلازما بعض الأسماك المقاومه للتجمد والتى تعيش فى القطب الشمالى والقطب الجنوبى على درجة حرارة ـ١,٩م وذلك لاحتواء دمها على ٢,٥٪ من الجلايكوبروتينات التى تخفض نقطه التجمد بتثبيط تكوين بللورات الثلج.

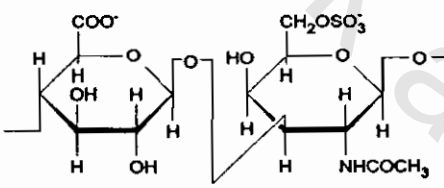
من الجلايكوبروتينات التى توجد على سطح الخلايا هو جلايكوفورين glycophorin الذى يوجد فى غشاء كرات الدم الحمراء ويحتوى على ٥٠٪ كربوهيدرات فى هيئة سلسلة من عديد السكر التى ترتبط بأحد أطراف سلسله عديد الببتيد. أما الجلايكوبروتين الليفى فيبرونكتين fibronectin يوجد على سطح الخلايا الحيوانية ويظهر أنه يعزز الالتحام بين الخلايا المتشابهة.

بروتوجلايكان وحمض هيلارونيك يمثلا العناصر الأساسية فى المادة بين خلوية

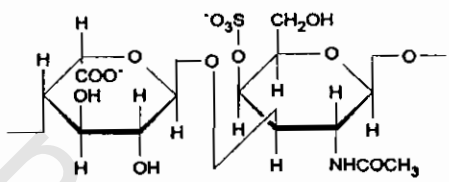
المجموعة الأخرى من عديدات السكر البنائية هى جلايكوز أمينوجلايكان glycosami-noglycan (عرفت من قبل بعديدات السكر المخاطية mucopolysaccharide) التى ترتبط عاده مع البروتين لتكون بروتوجلايكان protoglycan الذى سمى من قبل ميوكوبروتين mucoprotein. تختلف البروتوجلايكان بدرجة كبيره عن الجلايكوبروتين، فالجلايكوبروتينات عاده تحتوى على ١٪ إلى ٦٠٪ كربوهيدرات فى صورة سلاسل عديدة قصيرة نسبيا وغير متفرعه من سكريات الاليجو التى تختلف فى تركيبها وتنتهى سلاسلها غالبا بحمض سياليك Sialic . بالمقارنة فإن البروتوجلايكان أكبر بكثير حيث يبلغ وزنها اكثر من مليون دالتون وتحتوى عاده على ٩٠٪ إلى ٩٥٪ بالوزن كربوهيدرات فى صورة عدد كبير من سلاسل طويله غير متفرعه من جلايكوز أمينوجلايكان عاده بدون حمض سياليك.

تتكون سلاسل جلايكوز أمينوجلايكان من وحدات متكرره من سكر ثنائى، ويكون دائما أحد وحدتى السكر فى السكر الثنائى عباره عن سكر أمينى (N- أسيتايل جلوكوز أمين أو N- أسيتايل جالاكتوز أمين). وتحتوى جلايكوز أمينوجلايكان على عدد كبير

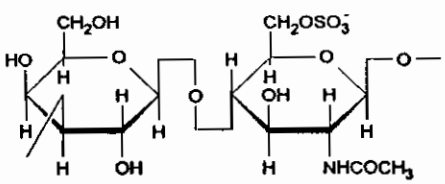
من الشحنات السالبه التى ترجع إلى وجود مجموعات كربوكسيل أو كبريتات أو كلاهما فى عدد كبير من وحدات السكر (شكل ٣ ـ ١٨). وقد أمكن تمييز سبع أنواع من جلايكوز أمينوجلايكان بناء على نوع وحدات السكر ونوع الإرتباط بين وحدات السكر وعدد وموضع مجموعات الكبريتات، وهذه المجموعات هى: كوندريتين ٤ ـ كبريتات chondroitin 4 - sulfate ، كوندريتين ٦ ـ كبريتات chondroitin 6-sulfate ، كبريتات الديرماتان dermatan sulfate ، كبريتات الهيباران heparan sulfale ، هيبارين heparin ، كبريتات الكيراتان keratan Sulfate وحمض الهيلارونيك hyaluronic acid (وهو المجموعة الوحيدة التى لا تحتوى على مجموعات كبريتات مرتبطة بوحدات السكر).



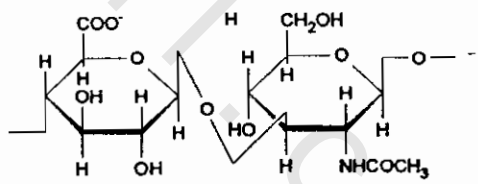
Chondroitin 6-sulfate



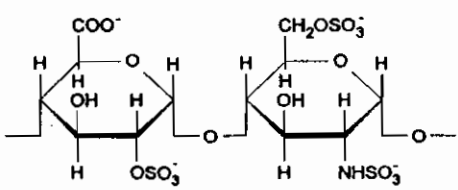
Dermatan sulfate



Keratan sulfate



Hyaluronate

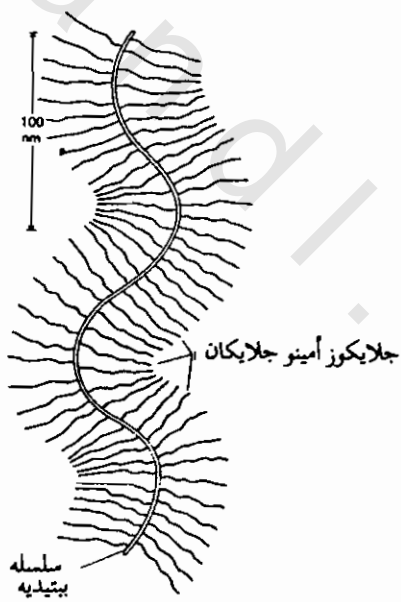


Heparin

شكل ٣ ـ ١٨

تركيب السكر الثنائى المتكرر فى بعض جلايكوز أمينوجلايكان الأساسية.

فى البروتوجلايكان يرتبط عدد كبير من سلاسل جلايكوز أمينوجلايكان بالسلسلة الببتيدية (شكل ٣ ـ ١٩). ونظرا لان سلاسل جلايكوز أمينوجلايكان محبه للماء فإنها ترتبط بكمية كبيره من الماء مكونة هلام مائى hydrated gels، وتعزز هذه الخاصية نتيجة لوجود الكثافة العالية من الشحنات السالبه والتى تجذب الكاتيونات النشطة أسموذيا. وخاصيه جذب الماء لسلاسل جلايكوز أمينوجلايكان تنشئ ضغط انتفاخ swelling pressure بين الخلايا الذى يقاوم قوى الانضغاط compressive force ، ولذلك فإن بروتوجلايكان تكون مناسبة للوظائف التى تقوم بها كماده مالئه فى الانسجه الضامه connective tissue . وهناك من الدلائل المتزايده التى تشير إلى أن حمض هيلارونيك له وظيفة خاصة فى الأنسجة وهو تسهيل هجره الخلايا اثناء التكوّن التشكلى morpho-genesis والإصلاح repair .



شكل ٣ ـ ١٩

مخطط توضيحى لتركيب جزئ برتوجلايكان الذى يشير إلى وجود عدد كبير من سلاسل جلايكوز أمينوجلايكان

obeikandl.com

المراجع

Baker, R. : Organic Chemistry of Biological compounds. Englewood Cliffs, N.J, Prentice - Hall, 1971.

Conn, E.E., P.K. Stumpf, G.Bruening, and R.H. Doi: Outlines of Biochemistry, 5th ed., John wiley & Sons, New York, 1987.

Davidson, E.A.: Carbohydrate chemistry, Holt, New York, 1967.

Florkin, M., and E.H. stotz (eds.): Comprehensive Biochemistry, ser. II, vol. 5, Carbohydrates, Elsevier, New York, 1963.

Lehninger, A.L.: Principles of Biochemistry, worth, New York, 1982.

Morrison, R.T., and R. N. Boyd: Organic Chemistry, 3rd ed., Boston, Allyn and Bocon, 1973.

Pigman, p., and D.Horton (eds.): The Carbohydrates, 2nd ed., Academic Press, New York, 1970.

Wood, W.B., J.H. Wilson, R.M. Benbow, and L.E.Hood: Biochemistry: A proplems Approach, Benjamin, Menlo Park, Calif., 1974.

Zubay, G. (coord. author): Biochemistry, Addison - wesley, Reaing, Mass., 1983.

obeikandl.com

تمارين

١ ـ كيف تعلل وجود ١٦ متشكلاً فراغيا للسكر الالدهيدى سداسى الكربون (الدوهكسوز) وهو فى الصيغة المفتوحة بينما يوجد ٣٢ متشكلاً فراغيا لنفس السكر وهو فى الصورة الحلقية؟

٢ ـ إرسم الصيغة التركيبيه لأى من السكريات β- D- الالدهيديه سباعيه الكربون فى الصوره الحلقية البيرانيه وأجب عن الأسئلة التالية:

أ ـ كم عدد ذرات الكربون غير المتماثلة (الكيراليه) فى هذا السكر؟

ب ـ كم عدد المتشكلات الفراغية المحتمله نظريا للسكر المذكور؟

جـ ـ ارسم الصيغة التركيبيه لمتشكل أنوميرانى anomer للسكر المذكور.

د ـ ارسم الصيغة التركيبيه لمتشكل إبيمارى epimer للسكر المذكور.

٣ ـ مخلوط من α و β- D- جالاكتوز الدوران الضوئى له عند الاتزان يساوى +٨٠,٢° فإذا كان الدوران النوعى لـ α - D- جالاكتوز النقى يساوى +١٥٠,٧° و β-D- جالاكتوز +٥٢,٨°. إحسب نسبة α و β-D- جالاكتوز فى المخلوط عند الاتزان.

٤ ـ بالرغم من أن السكر الثنائى لاكتوز يوجد فى صوره متشكلين أنوماريين فإنه لا توجد متشكلات أنوماريه للسكر الثنائى سكروز ـ فسر ذلك.

٥ ـ بالرغم من أن كل من الجلايكوجين والسليلوز عباره عن بوليمر من الجلوكوز الذى يرتبط بالارتباط الجلايكوسيدى (١←٤) فإنهما يختلفان بدرجة كبيره فى الخواص الفيزيائية. ما هى الخصائص التركيبيه لكل منهما التى تعكس هذا الاختلاف فى الخواص؟ ما هى الميزات البيولوجية للخواص الفيزيائية لكل منهما؟

obeikandl.com

فصل ٤

الليبيدات

Lipids

الليبيدات هى مجموعه المركبات البيولوجيه التى يمكن إستخلاصها من الخلايا والأنسجة الحيه بالمذيبات العضويه مثل الكلوروفورم والايثير والبنزين. وبالرغم من أن الليبيدات تشمل مجموعه كبيره ومتنوعه من المركبات فإن لها فقط أربع وظائف بيولوجيه: (١) فى جميع الخلايا تمثل الليبيدات أحد العناصر البنائية الأساسية فى الأغشيه الخلويه، (٢) بعض الليبيدات (ثلاثى أسايل جليسرولات) تستخدم كمخزن إحتياطى للطاقه، (٣) بعض الفيتامينات والهورمونات التى توجد في الحيوانات هى ليبيدات أو مشتقاتها، (٤) الأحماض المرارية وهى نوع من الليبيدات تستخدم فى إذابه أنواع الليبيدات الأخرى أثناء عملية الهضم.

الأحماض الدهنيه هى الوحدات البنائية لمعظم الليبيدات

توجد عده أقسام من الليبيدات، كل منها يقوم بوظيفة بيولوجية متخصصه (جدول ٤ ـ ١). بعض هذه الليبيدات وهى ثلاثى أسايل جليسرولات وفوسفو جليسريدات وسفنجوليبيدات والشموع تحتوى على أحماض دهنية كأحد عناصرها الأساسية. هذه المجموعه من الليبيدات تنتج أملاح الاحماض الدهنية بالتميؤ القاعدى، لذلك يطلق عليها أحيانا بالليبيدات المتصبنة. التربينات والأستيرويدات لا تحتوى على أحماض دهنية لذلك تسمى أحيانا بالليبيدات غير المتصبنه. البروستاجلاندينات من ناحية أخرى هى أحماض دهنيه طويلة السلسلة تحتوى على حلقة خماسية. ويتضح من ذلك أن الأحماض الدهنيه تشكل العناصر البنائية لمعظم أنواع الليبيدات.

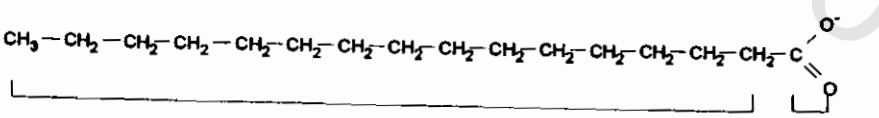
جدول ٤ ـ ١

أنواع الليبيدات الأساسية

١ ـ ثلاثى أسايل جليسرولات	Triacylglycerols
٢ ـ الفوسفو جليسريدات	phosphoglycerides
٣ ـ سفنجو ليبيدات	Sphingolipids
٤ ـ الشموع	Waxes
٥ ـ التربينات	Terpens
٦ ـ الاسترويدات	Steroids
٧ ـ البروستاجلاندين	Prostoglandins

تسميه الأحماض الدهنية

سوف نبدأ مناقشتنا بالأحماض الدهنيه وهى الوحدات البنائية لمعظم الليبيدات. الحمض الدهنى مثل حمض البالمتيك (شكل ٤ ـ ١) يحتوى على منطقتين مميزتين: سلسلة هيدروكربونيه طويله وهى مجموعه كارهه للماء (لاتذوب فى الماء) وليست نشطه كيميائيا، ومجموعه كربوكسيل التى تتأين فى المحاليل وهى محبه للماء (تذوب فى الماء) وتكوّن أسترات وأميدات بسهوله. والأحماض الدهنيه التى لا تحتوى على روابط مزودجه فى السلسله الهيدروكربونيه تعرف بالأحماض الدهنية المشبعه، أما التى تحتوى على رابطة مزدوجة أو أكثر فى السلسلة الهيدروكربونيه تعرف بالأحماض الدهنيه غير المشبعه.



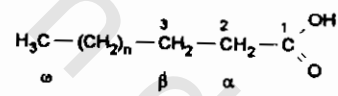
سلسلة هيدروكربونية
لاتذوب فى الماء

مجموعة كربوكسيل
تذوب فى الماء

شكل ٤ ـ ١

حمض بالمتيك

بالإضافة لوجود أسماء شائعه للأحماض الدهنيه فإنها أيضا تُعطى أسماء تصنيفيه (نظاميه). ويشتق الاسم التصنيفى للحمض الدهنى من اسم الهيدروكربون المقابل باستبدال الحرف e الاخير بالمقطع oic. مثال ذلك الحمض الدهنى المشبع الذى يحتوى على ١٨ ذره كربون (C_{18}) يسمّى اوكتا ديكونويك octadecanioc وذلك لأن الهيدروكربون المقابل هو اوكتاديكان octadecane . الحمض الدهنى ذو ١٨ ذره كربون ويحتوى على رابطه مزدوجة واحده يُسمّى اوكتاديكينويك octadecenoic، والذى يحتوى على رابطتين مزدوجتين يُسمّى أوكتاديكادينويك octadecadienoic، والذى يحتوى على ثلاثة روابط مزدوجة يُسمّى أوكتاديكاترينويك octadecatrienoic. الرمز المختصر 0 : 18 يعطى للحمض C_{18} المشبع، بينما الرمز 2 : 18 يشير إلى وجود رابطتين مزدوجتين. ويتم ترقيم ذرات الكربون فى الحمض الدهنى بدايه من مجموعه الكربوكسيل الطرفية.



ذرات الكربون ٢ و ٣ يشار إليهما بالحروف α (الفا) و β (بيتا) على التوالى، ومجموعه الميثايل الطرفيه يشار اليها بالكربون ω (أوميجا). موضع الروابط المزدوجة يتحدد بالحرف Δ (دلتا) الذى يتبعه رقم ذرات الكربون التى يبدأ عندها الرابطة المزدوجة مثال ذلك Δ^9 يشير إلى وجود رابطة مزدوجة بين ذرتى الكربون ٩و ١٠.

تختلف الأحماض الدهنيه فى طول السلسلة وفى درجة عدم التشبع

الأحماض الدهنية فى الأنظمة الحية (جدول ٤ ـ ٢) غالبا ما تحتوى على عدد زوجى من ذرات الكربون ما بين ١٤ إلى ٢٤ ذره، ولو أن الأحماض ذوات ١٦ و١٨ ذره كربون هى اكثرها انتشاراً. والسلسة الهيدروكربونيه فى الأحماض الدهنيه الحيوانيه تكون غير متفرعه، ولكنها قد تكون مشبعه أو تحتوى على رابطه مزدوجة أو أكثر. والروابط المزدوجة فى معظم الأحماض الدهنيه الطبيعية تكون فى الهيئة الفراغيه المضاهى cis.

جدول ٤ ـ ٢

بعض الأحماض الدهنية الشائعة فى الأنظمة الحية

عدد ذرات الكربون	عدد الروابط المزدوجة	الاسم الشائع	الاسم التصنيفى (النظامى)	الصيغة الجزيئية	الرمز المختصر
الأحماض الدهنية المشبعة					
١٤	—	حمض ميرستيك	حمض ترادیکانویك	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	14:0
١٦	—	حمض بالمتيك	حمض مكساديكانويك	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	16:0
١٨	—	حمض ستباريك	حمض أوكتاديكانويك	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	18:0
٢٠	—	حمض أراكيديك	حمض ايكوسانويك	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	20:0
الأحماض الدهنية غير المشبعة					
١٦	١	حمض بالميتوليبك	حمض cis - 9 - هكساديكنيويك	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$	$16:1\Delta^9$
١٨	١	حمض أوليبك	حمض cis - 9 -أوكتاديكينويك	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	$18:1\Delta^9$
١٨	٢	حمض لينوليبك	حمض cis - 9، 12 -أوكتاديكادينويك	$CH_3(CH_2)_4CH=CH-CH_2-CH=CH(CH_2)_7COOH$	$18:2\Delta^{9,12}$
١٨	٣	حمض لينولينيك	حمض cis 9، 12، 15ـ أوكتاديكاترينويك	$CH_3(CH_2)-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH(CH_2)_7COOH$	$18:3\Delta^{9,12,15}$

تتوقف خواص الأحماض الدهنيه والليبيدات المشتقه منها بدرجة كبيرة على طول السلسلة الهيدروكربونية وعلى درجة عدم التشبع. فالأحماض الدهنيه غير المشبعه لها درجة إنصهار أقل من الأحماض الدهنيه المشبعه التى لها نفس طول السلسلة الكربونيه، مثال ذلك درجة إنصهار حمض الاستياريك stearic acid تساوى ٦٩,٦°م، بينما هى لحمض الأولييك oleic acid (يحتوى على رابطة مزدوجة) ١٣,٤°م. والأحماض الدهنيه التى تحتوى على درجة عدم تشبع أكبر (رابطتين أو ثلاثة روابط مزدوجة) تكون درجة إنصهارها أقل من حمض الأولييك. وطول السلسلة الهيدروكربونيه يؤثر أيضا على نقطه الإنصهار، فدرجة إنصهار حمض البالمتيك palmetic acid (١٦ ذره كربون) أقل بـ ٦,٥°م عن درجة حرارة إنصهار حمض الاستياريك (١٨ ذره كربون).

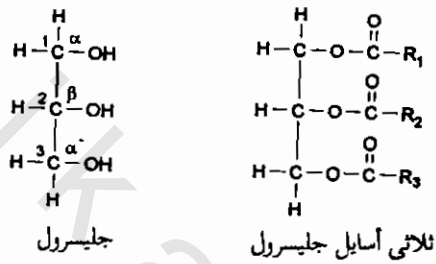
بالإضافة إلى الأحماض الدهنيه الشائعه الإنتشار (جدول ٤ ـ ٢)، فإنه امكن فصل اكثر من ١٠٠ حمض دهنى آخر من الكائنات الحيه المختلفه. وهذه الأحماض تختلف فى تركيبها عن الأحماض الشائعه، فقد تحتوى على سلسلة كربونيه متفرعه، أو تحتوى على رابطه ثلاثيه، أو قد تحتوى على بعض المجموعات الفعّاله فى السلسلة الكربونيه مثل مجموعه هيدروكسيل، أو مجموعة ابوكسى، أو حلقة سيكلوبروبين. هذه الأحماض غالبا ما يكون وجودها مرتبطاً بوظيفة متخصصة.

ثلاثى أسايل جليسرولات هى أسترات الأحماض الدهنيه مع الجليسرول

ثُلاثى أسايل جليسرولات triacylglycerols هى أبسط وأكثر الليبيدات انتشاراً والتى تحتوى فى تركيبها على أحماض دهنيه كوحدات بنائية. أحيانا يشار إلى ثلاثى أسايل جليسرولات بالجليسريدات الثلاثية triglycerides أو الدهون المتعادلة neutral fats وذلك لأنها جزيئات غير قطبية غير محبة للماء، فلا تحتوى على شحنات كهربيه أو مجموعات قطبية. وثلاثى أسايل جليسرولات هى الصوره التى تخزن عليها الأحماض الدهنيه كمستودع مُركّز لطاقة الأيض وذلك لوجودها فى صوره مختزله لا مائية، حيث تخزن فى سيتوبلازم خلايا النبات والحيوان ولكنها لا توجد فى الأغشية الخلويه.

وثلاثى أسايل جليسرولات هى أسترات للجليسرول، وهو كحول ثلاثى الهيدروكسيل،

مع ثلاثة أحماض دهنيه (شكل ٤ ـ ٢). وتوجد ثلاثى أسايل جليسرولات فى صور مختلفه بناء على نوع وموضع الأحماض الدهنيه الثلاثة المرتبطة مع الجليسرول. فثلاثى أسايل جليسرولات التى تحتوى على نوع واحد من الأحماض الدهنيه فى المواضع الثلاثه (١ ، ٢ و٣) تعرف بثلاثى أسايل جليسرولات بسيطة. كما تسمى ثلاثى أسايل

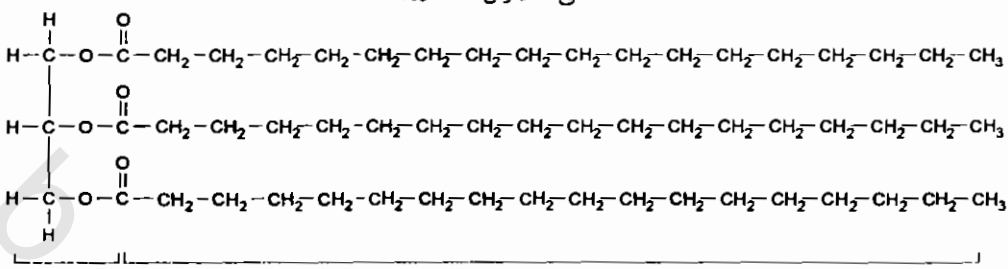


شكل ٤ ٢

الجليسرول والتركيب العام لثلاثى أسايل جليسرول R_1 و R_2 و R_3 تمثل السلسلة الهيدروكربونيه للأحماض الدهنيه الثلاثه.

جليسرولات البسيطة باسماء توضح نوع الحمض الدهنى الداخل فى تركيبها. مثال ذلك ثلاثى أسايل جليسرول البسيط الذى يحتوى على حمض إستياريك يدعى ثلاثى إستياريل الجليسرول tristearoylgycerol ، أما الذى يحتوى على حمض الأوليك يدعى ثلاثى أوليل جليسرول troleylglycerol (شكل ٤ ـ ٣). الأسماء البسيطة والأكثر شيوعا لهذين المركبين هما ثلاثى الإستيارين tristearin وثلاثى الأوليين triole-in على التوالى. ثلاثى أسايل جليسرول التى تحتوى على نوعين أو أكثر من الأحماض الدهنيه تدعى ثلاثى أسايل جليسرول مختلط، فذلك الذى يحتوى على جزيئين من حمض استياريك على ذره الكربون الأولى والثانيه وجزئ حمض أوليك على ذره الكربون الثالثه يدعى ١ ، ٢ ثنائى استيارو أوليل جليسرول 1,2- distearooleylglyce-rol . ومعظم الدهون الطبيعيه مثل زيت الأذره والذبد هى مخلوط معقد من ثلاثى أسايل جليسرولات البسيطة والمختلطة.

ثلاثى استياريل جليسرول

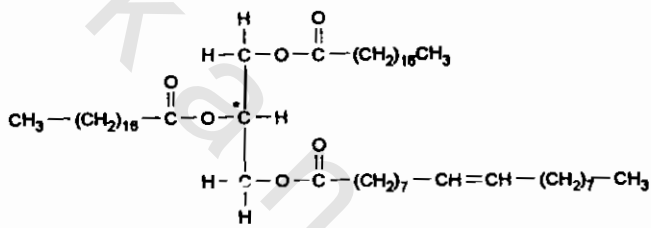


وحده حمض الاستياريك

جليسرول

١ ، ٢ ثنائى استيارو أوليل جليسرول

(الهيئة الفراغية L)



شكل ٤ ـ ٣

تركيب ثلاثى أسايل جليسرول البسيط والمختلط. لاحظ أنه بارتباط ذره الكربون ١ و ٣ فى الجليسرول بنوعين مختلفين من الاحماض الدهينه تصبح ذوه الكربون ٢ مركز كيرالى. ثلاثى اسايل جليسرول من هذا النوع الموجوده طبيعيا تكون فى الهيئة الفراغيه L

ثلاثى أسايل جليسرولات قد توجد فى صوره صلبه أو سائله إعتماداً على محتواها من الأحماض الدهينه. فثلاثى أسايل جليسرولات التى تحتوى فقط على أحماض دهنيه مشبعه (ذات درجة إنصهار مرتفعه) مثل ثلاثى الاستيارين وهو العنصر الأساسى فى شحم الابقار توجد فى صوره مواد صلبه بيضاء على درجة حراره الغرفه، وعاده تسمى دهن. من ناحية أخرى فإن ثلاثى أسايل جليسرولات التى تحتوى على نسبه كبيره من الأحماض الدهنيه غير المشبعه (ذات درجة إنصهار منخفضة) توجد فى صوره سائله على درجة حراره الغرفه وعاده تُدعى بالزيت مثل الزيوت النباتية كزيت الزيتون.

ثلاثى أسايل جليسرولات تُشكّل مخزون مركّز للطاقة

تُمثّل ثلاثى أسايل جليسرول مخزون مركّز لطاقة الأيض فى الحيوانات والنباتات وذلك لأنها مركبات مختزله وتوجد فى صوره لامائيه. فناتج الاكسده الكامله للأحماض الدهنيه يكون حوالى ٩ كيلو سعر/ جرام بالمقارنه بـ٤ كيلو سعر/ جرام لكل من الكربوهيدرات والبروتينات. ويرجع هذا الإختلاف الكبير فى ناتج الطاقة إلى أن الأحماض الدهنيه أكثر إختزالا عن الكربوهيدرات والبروتينات. بالإضافة إلى ذلك فإن ثلاثى أسايل جليسرول مواد غير قطبيه ولا تحمل شحنات كهربيه ولذلك فإنها تُخزّن فى صوره لا مائية، بينما البروتين والكربوهيدرات ذوات خواص قطبيه مرتفعه ولذلك توجد فى صوره مائية. وفى الحقيقة فإن جرام الجلايكوجين الجاف يرتبط باثنين جرام من الماء. وعلى ذلك فإن جرام الدهن اللامائي يخزن طاقه سته أضعاف ما يخزنه جرام الجلايكوجين المائى، ويتضح من ذلك لماذا أختيرت ثلاثى أسايل جليسرولات وليس الجلايكوجين كمخزون للطاقة. مركز تجمع ثلاثى أسايل جليسرول فى الثديات هو سيتوبلازم الخلايا الدهنيه حيث تُخزن كميه كبيرة من ثلاثى أسايل جليسرول فى صوره قطرات دهنيه التى قد تملأ حجم الخليه كله. وهذا النوع من الخلايا متخصص فى إبتناء وتخزين ثلاثى أسايل جليسرول وفى تحريك جزيئات الوقود (الأحماض الدهنيه) إلى الأنسجة الأخرى عندما يكون إمداد الطاقة الخارجى محدوداً.

فى النباتات الراقيه توجد ثلاثى أسايل جليسرول بكميات صغيره فى الأنسجة الخضرية، ولكنها تخزن بكميات كبيره فى أنسجة التكاثر (البذور والثمار)، خاصه فى بعض الأنواع مثل الخروع، وهى بذلك تمثل مخزون غذائى يستخدم فى إنتاج الطاقة والكربون العضوى فى فترة الإنبات والنمو الأولى.

المواد الشمعيه هى استرات لأحماض دهنيه طويله السلسلة مع كحولات طويلة السلسلة

المواد الشمعيه waxes عباره عن مخلوط معقد من الليبيدات غير القطبيه، والتي يختلف تركيبها من نوع من الكائنات إلى آخر. مع ذلك فإن الاسترات فى الشموع تمثل فى

كل الأنواع الجزء الأكبر فى هذا المخلوط، وهى عباره عن أسترات لأحماض دهنيه طويله السلسلة (تحتوى على ١٤ إلى ٣٦ ذره كربون) مع كحولات طويلة السلسلة (تحتوى على ١٦ ـ ٢٢ ذره كربون).

تشترك معظم المواد الشمعيه فى خاصية عامه وهى أنها تفرز خارج الأنسجة الحيه حيث تقوم بوظيفة حماية أو تكوين طبقه طارده للماء. ففى الفقاريات تفرز المواد الشمعية بواسطة الغدد الجلدية لتعمل كغطاء واق للشعر. كما يغطى الصوف والفراء أيضا بالمواد الشمعيه. أما الطيور وخاصة المائية منها فيغطى ريشها بالمواد الشمعيه لجعله طارداً للماء. وأوراق وثمار العديد من النباتات يغطى سطحها أيضا بالمواد الشمعيه التى تعمل على خفض الفقد الزائد للماء أو دخوله إلى الأنسجة، كما أنها قد تشارك بدرجة ما فى حماية الأنسجة ضد المخاطر الكيميائية والفيزيائية والبيولوجية.

المواد الشمعيه تنتج وتستخدم بكميات كبيرة فى الكائنات البحريه خاصة فى الكائنات الطافية أو المعلقة فى المياه حيث تمثل المواد الشمعيه فى هذه الحالة صوره مخزنه للطاقة.

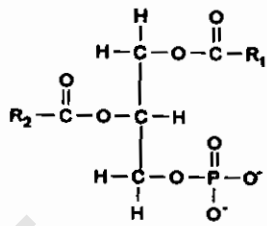
ونظرا لأن ثلاثى أسايل جليسرولات والشموع مواد غير قطبيه فأحيانا يطلق عليهما الليبيدات غير القطبية.

الفوسفوليبيدات عناصر أساسية فى الأغشية الخلوية

الفوسفو ليبيدات phospholipids هى الليبيدات البنائية الأساسية فى جميع الأغشية الخلوية فى كل من الخلايا مميزه النواه والخلايا أوليه النواه. هذه الليبيدات كما يظهر من إسمها تحتوى على فوسفور فى صوره فوسفات. وتعتبر الفوسفو جليسريدات phoshog-lycerids من ناحية الكم أكبر الفوسفو ليبدات أهمية، والاسفنجوميلين يعتبر أيضا من الفوسفوليبدات وسوف نشير إليه عند دراستنا للاسفنجو ليبيدات.

يتألف الفوسفوجليسريد من جليسرول كجزء أساسى وأثنين من الأحماض الدهنيه وكحول مفسفر. وفى الفوسفوجليسريدات ترتبط مجموعتا الهيدروكسيل على ذره الكربون الأولى والثانية مع الحمضين الدهنيين، أما مجموعه الهيدروكسيل الثالثة فترتبط مع حمض الفوسفوريك، والمركب الناتج يسمى حمض الفوسفاتيديك phosphatidic

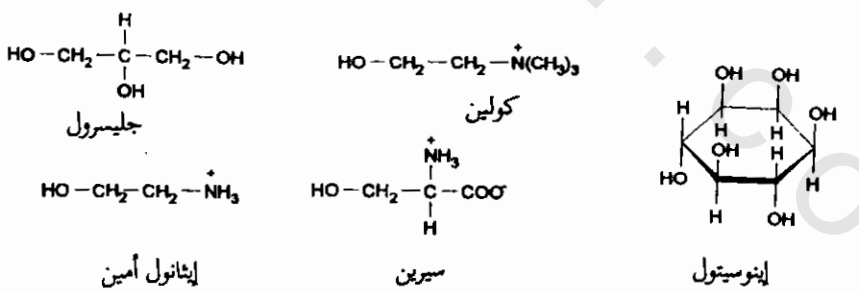
acid (شكل ٤ ـ ٤) وهو المركب الأساسى الذى يتكون منه الفوسفوجليسريدات. يوجد حمض الفوسفاتيديك بكميات صغيره فى الأغشية الخلوية ولكنه مركب وسيط مهم فى ابتناء الفوسفوجليسريدات.



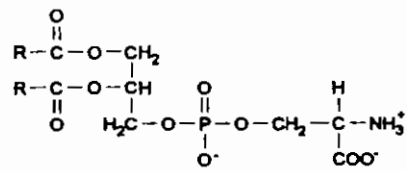
شكل ٤ ـ ٤

التركيب العام لحمض الفوسفاتيديك (ثنائى أسايل جليسرول فوسفات)

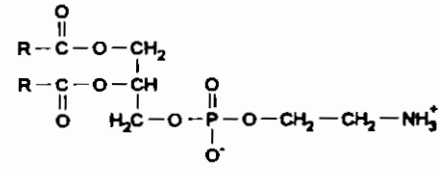
الفوسفوجليسريدات الرئيسية هى مشتقات لحمض الفوسفاتيديك، فترتبط مجموعه الفوسفات فى حمض الفوسفاتيديك مع مجموعه هيدروكسيل فى عدد مختلف من الكحولات. والكحولات الشائعه التى توجد فى الفوسفوجليسريدات تشمل سيرين -se rine، ايثانول أمين ethanolamine، كولين choilne، جليسرول glycerol، واينوسيتول inositol.



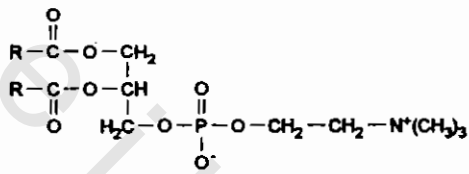
الصيغة البنائية للفوسفو جليسريدات الأساسية الناتجة من إرتباط الكحولات المذكوره مع حمض الفوسفاتيديك وهى فوسفاتيديل سيرين وفوسفاتيديل إيثانول أمين وفوسفاتيديل كولين وفوسفاتيديل جليسرول وفوسفاتيديل اينوسيتول وثنائى فوسفاتيديل جليسرول موضحة فى (شكل ٤ ـ ٥).



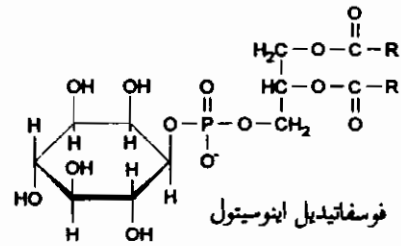
فوسفاتيديل سيرين



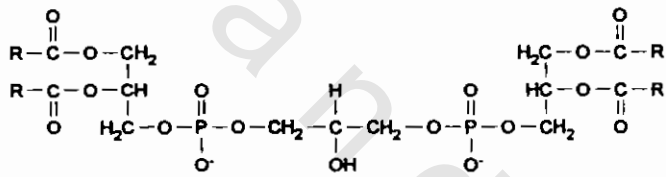
فوسفاتيديل ايثانول أمين



فوسفاتيديل كولين



فوسفاتيديل اينوسيتول



ثنائى فوسفاتيديل جليسرول

شكل ٤ ـ ٥

الصيغة البنائية لبعض الفوسفوجليسريدات

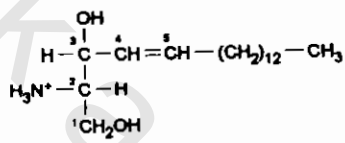
توجد أصناف جزيئية مختلفه فى كل نوع من الفوسفوجليسريدات، فالإسم فوسفاتيديل كولين يشير إلى مخلوط معقد من الفوسفوجليسريدات التى تحتوى جميعها على كولين ولكنها تحتوى على أحماض دهنيه مختلفه مستبدله على ذره الكربون الأولى والثانيه. فخلايا الدم الحمراء تحتوى على واحد وعشرين صنفاً ـ أو نوعاً جزيئيا مختلفا من فوسفاتيديل كولين التى تختلف فيما بينها فى نوع الأحماض الدهنيه المرتبطه مع ذره الكربون الأولى أو الثانيه فى الجليسرول أو كليهما. وهذا صحيح أيضا بالنسبة للفوسفوجليسريدات الأخرى.

الإسفنجوليبيدات هى أيضا عناصر مهمه فى الأغشية الخلوية

الإسفنجوليبيدات shingolipids هى المجموعه الثانيه من الليبيدات القطبيه التى توجد

كعناصر بنائيه فى الأغشيه الخلوية فى معظم الكائنات فيما عدا أنواع عديده من البكتريا. تتألف الاسفنجوليبيدات من ثلاثه عناصر أساسيه: (١) قاعدة سفنجوزين sphingosine (أو أحد مشتقاتها) وهى عباره عن كحول طويل السلسلة، (٢) جزئ حمض دهنى، (٣) مجموعه قطبيه.

توجد ثلاثه قواعد أساسيه فى الأغشية الخلوية التى تحتوى على ١٨ ذره كربون، وعدد من القواعد الأخرى التى تختلف فى طول السلسلة وعدد الروابط المزدوجة أو فى تفرع مجموعه الألكيل. سفنجوزين (٤سفنجانين sphinganine - 4) (شكل ٤ ـ ٦)



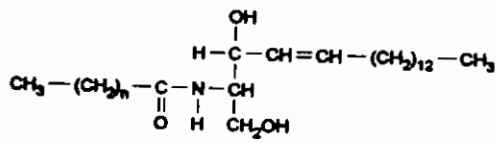
شكل ٤ ـ ٦

تركيب سفنجوزين. فى ثنائى هيدروسفنجوزين تختزل الرابطة المزدوجة بين C_4 و C_5. فى فيتوسفنجوزين تُستبدل ذره هيدروجين من على C_4 فى الاسفنجانين بمجموعه هيدروكسيل

يعتبر من ناحية الكم أكثر القواعد أهميه فى الخلايا الحيوانية (٩٠٪ أو أكثر)، بينما ثنائى هيدروسفنجوزين dihydrosphingosine (سفنجانين sphinganine) يوجد أيضا فى الخلايا الحيوانية ولكن بنسبه صغيره. فيتوسفنجوزين phytosphingosine (٤ ـ هيدروكسى سفنجانين hydroxysphinganine - 4) من ناحية أخرى هو القاعدة التى توجد فى الخلايا النباتيه والخميره. تُعتبر القواعد الحرة سامه للخلايا ولذلك توجد بكميات ضئيله جداً، مع ذلك فإنها مركبات وسيطه مهمة فى إبتناء الاسفنجو ليبيدات.

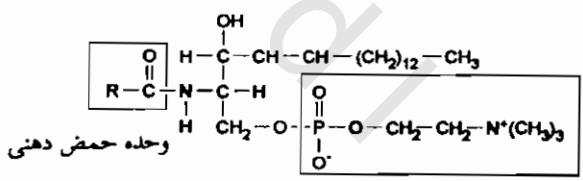
فى الاسفنجوليبيدات ترتبط مجموعه الأمين فى القاعده مع أحد الأحماض الدهنيه برابطه أميد ويتكون سيراميد ceramide وهو التركيب الأساسى المميز الذى يدخل فى تركيب كل الاسفنجوليبيدات. والأحماض الدهنيه التى ترتبط بمجموعه الأمين فى

القاعده تحتوى أساساً على ١٦ أو ١٨ أو ٢٢ أو ٢٤ ذره كربون، وقد تكون مشبعه أو تحتوى على رابطة مزدوجة فردية.



Ceramide

يوجد قسمين رئيسين من الاسفنجو ليبيدات بناءاً على طبيعة المجموعه الكيميائية التى ترتبط بمجموعه الكحول الأولى فى السيراميد هما سفنجو ميلينات sphingomye-lines وجلايكوسفنجو ليبيدات glycosphingolipids (أو جلايكوليبيدات glycolip-ids). فى سفنجوميلين ترتبط مجموعه الكحول الأولى فى السيراميد مع فوسفات الكولين أو فوسفات إيثانول أمين. ونظرا لأن الإسفنجوميلينات تحتوى على فوسفور فيمكن إعتبارها فوسفو ليبيدات، وفى الحقيقة أنها تشابه فى خواصها وهيئتها الفراغيه الفوسفوجليسريدات المقابله فوسفا تيديل كولين وفوسفاتيديل إيثانول أمين.

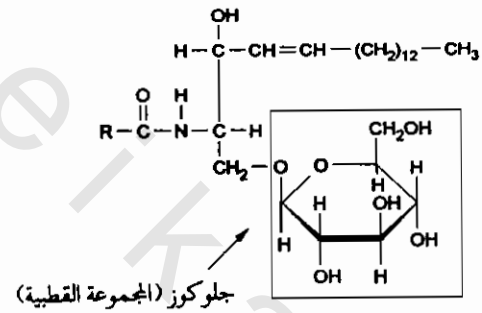


سفنجوميلين

توجد الإسفنجوميلينات فى معظم أغشيه الخلايا الحيوانيه، كما توجد بكميات كبيره فى رقائق الميلين myeline sheets وهو الغشاء متعدد الطبقات الذى يحمى ويعزل الالياف العصبية.

الجلايكوسفنجو ليبيدات أو الجلايكو ليبيدات كما يظهر من إسمها هى ليبيدات تحتوى على جزء كربوهيدراتى. وفى الجلايكو ليبيدات ترتبط وحده سكر أو أكثر (بدلا من فوسفات الكولين أو فوسفات إيثانول أمين) مع مجموعه الكحول الأولى فى السيراميد. وأبسط الجلايكوليبيدات هى سيربروسيد cerebroside التى تحتوى على

وحده سكر فرديه الذى يكون جلوكوز أو جالاكتوز (شكل ٤ ـ ٧). جالاكتوسيربروسيد الذى يحتوى على جالاكتوز كمجموعه قطبية يوجد بصفه خاصة فى أغشيه خلايا المخ، بينما جلوكوسيربروسيد الذى يحتوى على جلوكوز كمجموعه قطبيه يوجد فى أغشية الخلايا غير العصبية.

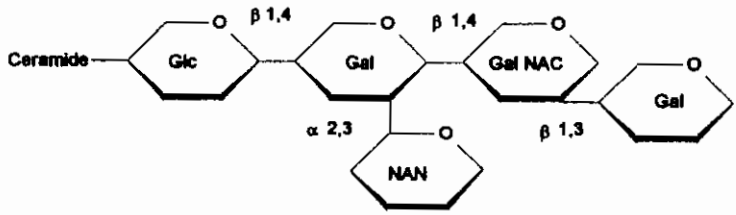


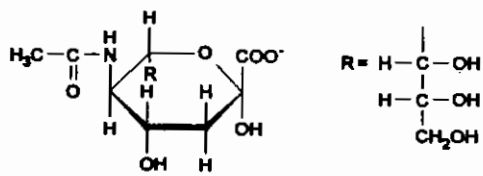
شكل ٤ ـ ٧

جلوكوسيربروسيد الذى يحتوى على جلوكوز كمجموعه قطبيه. فى جالاكتو سيربروسيد تستبدل وحدة الجلوكوز بوحده جالاكتوز.

يوجد أيضا أنواع من سيربروسيد التى تحتوى على وحدتين أو ثلاثه أو أربع وحدات سكر والتى قد تكون جلوكوز أو جالاكتوز أو N ـ أسيتايل ـ جالاكتوز أمين. وهذه السيربروسيد المعقده توجد بدرجة كبيره فى الطبقة الخارجية لغلاف الخلايا.

الجلايكو ليبيدات الأكثر تعقيداً مثل جانجلوسيد gangliosides تحتوى على سلسلة متفرعه من وحدات السكر التى قد يصل عددها إلى سبعه وحدات بالإضافة إلى وحده طرفية أو أكثر من حمض N- أسيتايل نيورامينيك N- acetylneuraminic acid (يعرف أيضا بحمض سياليك sialic acid) (شكل ٤ ـ ٨). توجد الجانجلوسيدات بنسبه كبيره قد تصل إلى ٦ ٪ فى الماده الرماديه للمخ، كما أنها توجد أيضا ولكن بنسبه أقل فى الأنسجة غير العصبية حيث تمثل عنصر مهم فى مواضع الاستقبال الخاصة فى أغشية الخلايا. وقد تم تمييز أكثر من ١٥ نوع من الجانجلوسيدات التى تختلف فى عدد ومواضع السكر السداسى وحمض السياليك.





حمض N- أسيتايل نيورامينيك

شكل ٤ ـ ٨

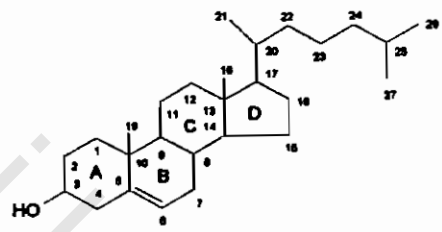
تركيب جانجلوسيد GM_1 . الاختصارات المستخدمه هى: Gal = جالاكتوز؛ GalNAC = أسيتايل جالاكتوز أمين Glc = جلوكوز؛ NAN = N- أسيتايل نيرامينات. فى هذه التسمية المختصره فإن G تشير إلى جانجلوسيد والحرف الثانى يشير إلى عدد وحدات حمض السياليك (M = وحده حمض ساليك) D = وحدتين، T = ثلاثة وحدات) الرقم بمثل (5-n) حيث n هى عدد وحدات السكر المتعادل.

الاسترويدات هى ليبيدات غير متصبنه تقوم بوظائف بيولوجية مختلفة

الاسترويدات steroids جزيئات معقده لا تحتوى فى تركيبها على أحماض دهنيه وتشمل مجموعه كبيره من المركبات ذات النشاط البيولوجى الهام. بعض هذه المواد مثل كولسترول cholesterol تدخل فى بناء الأغشية الخلوية، والبعض الآخر مثل هورمونات الجنس لها نشاط هورمونى متخصص. وتشمل هذه المجموعه أيضا على بعض الفيتامينات الذائبة فى الدهون وكذلك الأحماض المرارية التى تقوم باستحلاب وإذابه الليبيدات الأخرى فى القناه الهضمية.

الكولسترول هو أحد أفراد مجموعه من الاسترويدات والتى تدعى استيرولات sterols وهى عباره عن سترويدات كحوليه. والكولسترول (شكل ٤ ـ ٩) وإستر الكولسترول مع حمض دهنى طويل السلسلة تمثل عناصر مهمه فى الليبوبروتينات التى توجد فى

البلازما وفى الغشاء البلازمى للخلايا مميزه النواه، ولكنه لا يوجد فى النباتات أو البكتريا التى تحتوى على نوع آخر من الإسترويدات. ويعتبر الكولسترول أيضا ماده وسيطه يتكون منها استرويدات أخرى مهمه فى الحيوانات مثل الأحماض المراريه والهورمونات الاسترويديه.



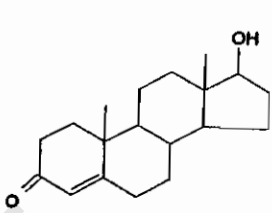
كولسترول

شكل ٤ ـ ٩

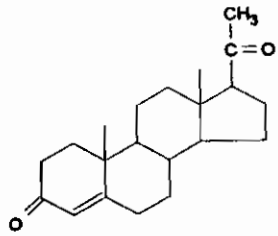
كولسترول cholesterol . ستجما ستيرول له تركيب مماثل للكولسترول فيما عدا إحتوائه على رابطة مزدوجة بين ذرتى الكربون رقم ٢٢ و ٢٣.

تحتوى أغشية الخلايا النباتيه على إستيرولات أخرى تعرف فى مجموعها فيتوستيرولات منها ستجماستيرول الذى يختلف عن الكولسترول فى إحتوائه على رابطة مزدوجة بين ذرتى الكربون ٢٢ و ٢٣ (شكل ٤ ـ ٩). الفطروالخميره تحتوى على نوع من الاستيرولات يدعى ميكوستيرول منها أرجوستيرول الذى يتحول إلى فيتامين D بواسطة أشعه الشمس.

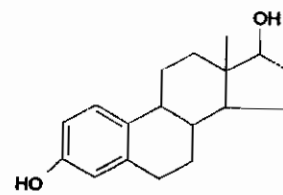
يعتبر الكولسترول المادة البادئة فى البناء الحيوى للهورمونات الاسترويديه والتى تشمل هورمونات الجنس وهورمونات الغده فوق الكلويه. وتصنف هورمونات الجنس إلى مجموعات ثلاثه: هورمونات أنثوية أو إستروجينات، هورمونات الحمل أو بروجستيرونات، وهورمونات ذكرية أو أندروجينات. وتركيب ثلاثه من هذه الهورمونات موضح فى شكل (٤ ـ ١٠).



تستوستيرون Testosteron
(هورمون ذكرى)



بروجستيرون Progestrone

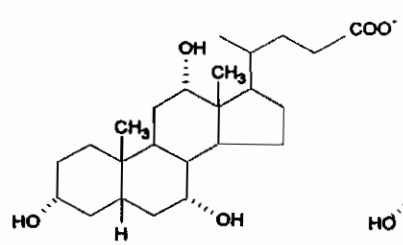


استراديول Estradiol
(هورمون أنثوى)

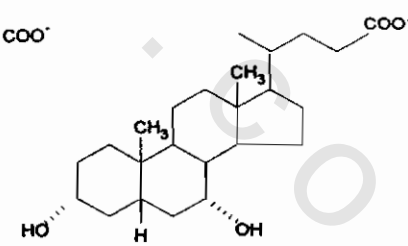
شكل ٤ ـ ١٠

يعض الهورمونات الإسترويديه: تستستيرون (هورمون ذكرى) يشجع النضج الجنسى ويحافظ على الخصائص الجنسية الذكرية. إستراديول (هورمون أنثوى) مسئول عن النضج الجنسى فى الأناث يشجع ويحافظ على الخصائص الجنسية الأنثوية. بروجستيرون ماده بادئة للهورمونات الأخرى، يجهز الرحم لزرع البويضة الملقحة، كما يمنع الاباضة أثناء الحمل.

الأحماض المراريه وهى النواتج الأساسية لهدم الكولستروول هى مشتقات هيدروكسيلية للكولسترول. وأهم الأحماض المرارية فى الإنسان هى حمض كوليك وحمض كينودى أوكسى كوليك (شكل ٤ ـ ١١). وتوجد الأحماض المرارية فى الصفراء فى صوره مرتبطة مع مركب التورين أو جليسين، وتعرف هذه المشتقات بأملاح الصفراء.



حمض كوليك cholic acid



حمض كينودى أوكسى كوليك Chenodeoxycholic acid

شكل ٤ ـ ١١

حمض كوليك وحمض كينودى اوكسى كوليك وهى الأحماض المرارية الأساسية فى صفراء الإنسان

تتألف الصفراء من مخلوط من المركبات العضوية وغير العضوية. وكما هو موضح فى جدول ٤ ـ ٣ فإن أملاح الصفراء وفوسفاتيديل كولين تُمثِّل من ناحية الكم أهم محتويات الصفراء. تصنّع الصفراء فى الكبد وتخزن فى المراره وتمر خلال القناة الهضمية إلى الأثنى عشر حيث تعمل أملاح الصفراء على استحلاب واذابه ليبيدات الغذاء ليسهل تفكيكها بواسطة انزيمات الليبيز فى الأمعاء الدقيقة.

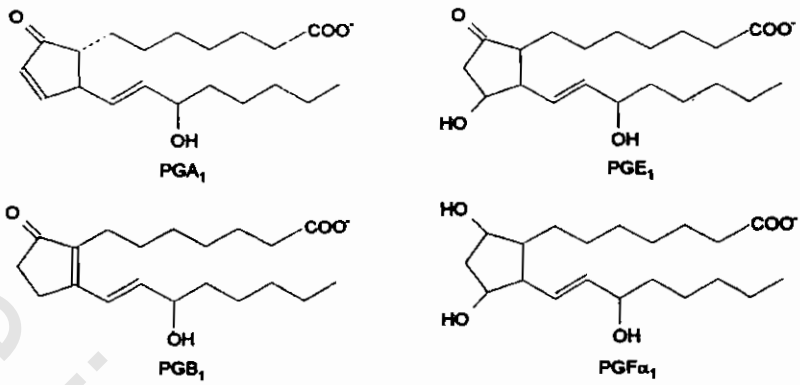
جدول ٤ ـ ٣
المركبات العضوية فى صفراء الإنسان

المركب	التركيز (جم / لتر)
أملاح الصفراء	١,٢ ـ ١٨,٠
فوسفاتيديل كولين	١,٤ ـ ٨,٠
كولسترول	١,٠ ـ ٣,٣
بلى روبين	,١ ـ ,٧
بروتين	,٣ ـ ٣,٠

البروستاجلاندينات هى مشتقات للأحماض الدهنية وتعمل كمؤثرات وسيطه فى تنظيم الأيض

البروستاجلاندينات prostaglandins هى مجموعه كبيره من مشتقات الأحماض الدهنيه التى لها نطاق واسع من النشاط البيولوجى ذات طبيعة تنظيميه. وعندما اكتشفت البروستاجلاندينات فى عام ١٩٣٠، كان يعتقد أنها ماده واحده، لكن الأبحاث التى أُجريت بعد ذلك أوضحت وجود عدد كبير من البروستاجلاندينات التى تنتشر فى الأنسجة المختلفة.

البروستاجلاندينات هى أحماض دهنيه تحتوى على ٢٠ ذره كربون وحلقة كربونية خماسيه، والاقسام الرئيسية منها تأخذ الرموز المختصره PGA، PGB ، PGE و PGF متبوعه برقم سفلى يشير إلى عدد الروابط المزدوجة خارج الحلقة (شكل ٤ ـ ١٢).



شكل ٤ ـ ١٢

تركيب بعض البروستاجلاندينات

للبروستاجلاندينات نشاط بيولوجى متعدد، ويظهر أنها تعمل كمؤثرات وسيطة فى الفعل الهورمونى ولا تعمل بذاتها كهرومونات. ومن الواضح أن عدداً كبيراً من تأثيرات هذه المركبات يكون عن طريق التحكم فى مستوى الأدينوزين أحادى الفوسفات الحلقى cAMP . مع ذلك فإن الأساس الجزيئى لنشاط البروستاجلاندينات الرئيسية غير معروف. ومن بعض تأثيرات البروستاجلاندينات استحثاث الالتهاب وتنظيم سريان الدم إلى الأعضاء والتحكم فى نقل الأيونات خلال بعض الأغشية والعمل كمؤثرات وسيطة فى النقل العصبى فى مواضع الاتصالات العصبية.

الليبوبروتينات مواد مزدوجة تحتوى على ليبيدات وبروتينات

توجد بعض الليبيدات مرتبطة مع أنوع معينة من البروتينات لتكّون ليبوبرتينات lipopro-teins ، والتى بدورها تشمل الليبوبروتينات الناقلة وأنظمة الليبوبروتينات فى الأغشية الخلوية. وفى هذه الأنظمة لا ترتبط الليبيدات مع البروتينات بروابط تساهمية، ولكن ترتبط بالفعل المتبادل للمجموعات غير القطبية فى عناصر الليبيدات والبروتينات.

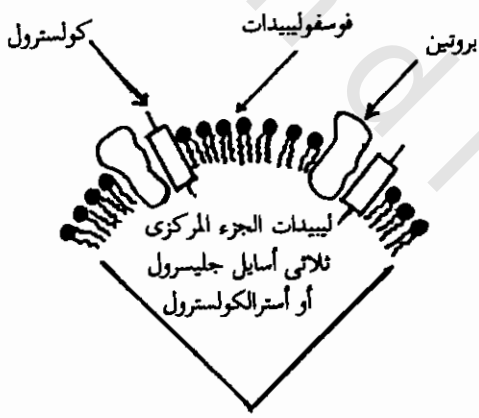
تشمل الليبوبروتينات الناقلة فى البلازما على أربعة أنواع بناءً على درجة كثافتها (جدول ٤ ـ ٤) : كيلو ميكرون chylomicron، وليبوبروتين ذى كثافة منخفضة جداً (VLDL)، وليبوبروتين ذى كثافة منخفضة (LDL)، وليبوبروتين ذى كثافة مرتفعة (HDL).

جدول ٤ ـ ٤

ليبوبروتينات البلازما

النـــوع	الكثافة (جم/مل)	بروتين ٪	ثلاثى أسايل جليسرول ٪	فوسفوليبيدات ٪	كولسترول ٪
كيلوميكرون	,٩٢ ـ ,٩٦	١,٧	٩٦	,٨	١,٧
VLDL	,٩٥ ـ ١,٠	١٠	٦٠	١٨	١٥
LDL	١,٠ ـ ١,٠٦	٢٥	١٠	٢٢	٤٥
HDL	١,٠٦ ـ ١,٢١	٥٠	٣	٣٠	١٨

ويبدو أن تركيب ليبوبروتينات البلازما المختلفة متشابه (شكل ٤ ـ ١٣)، فكل نوع منها يحتوى على جزء مركزى من الليبيدات المتعادلة التي تشمل ثلاثى أسايل جليسرول و/ أو إستراالكولسترول ويحيط بهذا الجزء المركزى بروتين وفوسفو ليبيدات وكولسترول، وتوجه الجزيئات بحيث يكون الجزء القطبى منها على سطح الليبوبروتين.



شكل ٤ ـ ١٣

التنظيم البنائى لليبوبروتينات البلازما فى الإنسان

تبنى الليبوبروتينات وتفرز بواسطة الكبد والمعى intestine. والليبوبروتينات لها القدره على إذابه الليبيدات غير القطبية (الغير ذائبه فى الماء)، ولذلك فإن وظيفتها الأساسية هو

نقل الكولسترول وثلاثى أسايل جليسرول فى سوائل الجسم. بالإضافة إلى ذلك فإن البروتينات فى الليبوبروتينات تحتوى على أشارات التى تنظم دخول وخروج ليبيد ما عند النسيج المستهدف. فيقوم كيلوميكرون بنقل ثلاثى أسايل جليسرول والكولسترول والليبيدات الأخرى التى يكون مصدرها الغذاء من المعى إلى الأنسجة الدهنيه والكبد. بينما تقوم VLDL بنقل ثلاثى أسايل جليسرول المبتنية داخل الجسم إلى الأنسجة الدهنيه. أما الدور الذى تقوم به LDL هو نقل الكولسترول من الأنسجة المحيطة وتنظيم بناء الكولسترول فى هذه الأنسجة. أما احد وظائف HDL هو نقل الكولسترول من الأنسجة المحيطة إلى الكبد.

وهناك من الأدلة العديدة التى تشير إلى أن ارتفاع مستوى VLDP وانخفاض مستوى HDL معاً فى الدم هو أحد العوامل المهمه فى حدوث مرض تصلب الشرايين atheros-clerosis ، المصاحب لترسيب الكولسترول واسترات الكولسترول على السطح الداخلى للاوعيه الدموية. ومرض تصلب الشرايين يجعل الشخص عرضه للسكته المخية strock والانسداد التاجى الناتجان عن تقييد سريان الدم خلال أوعيه الدم المسدوده فى المخ والقلب على التوالى.

الفوسفوليبيدات والجلايكوليبيدات تكوّن طبقات مزدوجة بسهولة

الليبيدات القطبية التى تشمل الفوسفو ليبيدات والجلايكوليبيدات هى جزيئات مزدوجة الخواص amphipathic وذلك لاحتوائها على أجزاء قطبية وأجزاء غير قطبية. فالمجموعه القطبية فى كل منها تفضل البيئة المائية بينما السلاسل الهيدروكربونيه تكون غير محبه للماء. وهذه الخاصية المزدوجة هى التى تسمح لليبيدات القطبيه بتكوين طبقات ثنائية (طبقات مزدوجة) bilayer فى الأوساط المائية (شكل ٤ـ١٤). وهناك من الدلائل ما يشير إلى أن طبقة الليبيدات المزدوجة هى المسئولة عن التنظيم البنائى الأساسى لمعظم الأغشية الخلوية التى ينطمر فيها البروتين.

تكوين طبقة الليبيدات المزدوجة هى عملية تجمع ذاتية، أو بمعنى آخر فإن تكوين الطبقة المزدوجة تكون متضمنه فى تركيب الجزيئات ذاتها المكونه للطبقة المزدوجة خاصة

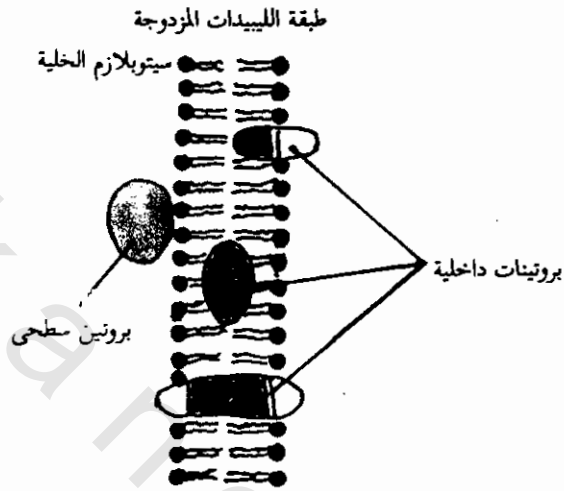
صفاتها المزدوجة. فتكوين طبقة الليبيدات المزدوجة من الفوسفوليبيدات والجلايكوليبيدات فى الماء تكون تلقائية وسريعة، والتأثير المتبادل للمجموعات غير القطبية hydrophobic interaction للسلاسل الهيدروكربونية هو القوة الدافعه الأساسية فى تكوين طبقة الليبيدات المزدوجة.

شكل ٤ ـ ١٤
تركيب الطبقة المزدوجة فى الليبيدات القطبية

الأغشية البيولوجية عبارة عن تركيبات مرنه تتألف من عناصر مختلفة

نتائج التحليل الكيميائى والتصوير بالمجهر الالكترونى للأغشيه البيولوجية بالإضافة إلى الدراسات المقارنه على الطبقات المزدوجة المصنّعه من الفوسفوليبيدات قد حدّت بعالمين هما سنجر Singer ونيكلسون Niclson عام ١٩٧٢ إلى إقتراح النموذج المرن متعدد العناصر Fluid mosaic model للأغشية البيولوجية (شكل ٤ ـ ١٥). وقد اقترح فى هذا النموذج وجود مادة أساس matrix مستمره وهى طبقة مزدوجة من الليبيدات القطبية، وهذه الطبقة المزدوجة تكون مرنه أو سائله وذلك لأن الذيول غير القطبيه فى الليبيدات تحتوى على مخلوط من الأحماض الدهنيه المشبعه وغير المشبعه، وهذه الليبيدات تكون فى الحاله السائلة عند درجات الحرارة العادية للخلية. وينطمر فى هذه الطبقة المزدوجة بروتينات الغشاء الداخلية (المتكاملة) integral proteins التى تحتوى على مجموعات طرفية غير قطبية تُسهّل اذابتها فى الطبقة المزدوجة. البروتينات السطحية peripheral Proteins التى توجد على سطح الطبقة المزدوجة من ناحية أخرى تحتوى على مجموعات جانبية قطبية تُسهّل ارتباطها بالمجموعات القطبية الرأسية فى طبقة

الليبيدات المزدوجة، وتكون هذه الليبيدات على سطح الغشاء المقابل لسيتوبلازم الخليه. وبينما يمكن فصل البروتينات السطحية بأحد الطرق المعتدلة مثل الاستخلاص بمحلول ملحى مركز (مثل محلول NaCl ١ مولر)، فإن البروتينات الداخلية يمكن فصلها فقط بواسطة أحد المنظفات detergent أو أحد المذيبات العضوية.



شكل ٤ ـ ١٥

النموذج المرن متعدد العناصر Fluid mosaic model للأغشية البيولوجية.

بالإضافة إلى الفوسفوليبيدات والجلايكوليبيدات والبروتين فإن بعض الأغشيه تحتوى أيضا على كولسترول، وهذا المركب يوجد فى أغشيه الكائنات مميزه النواه ولكنه لا يوجد فى غير مميزه النواه. وبينما تكون أغشية البلازما فى خلايا مميزه النواه غنيه بالكولسترول، فإن أغشية عضياتها تحتوى على كميات قليلة من الكولسترول.

مرونه (سيوله) الأغشية البيولوجية تُنظَّم بمحتوياتها من الأحماض الدهنيه والكولسترول

السلاسل الهيدروكربونيه للأحماض الدهنيه فى طبقة الليبيدات المزدوجة للأغشية البيولوجية هى التى تحدد نقطة الإنصهار melting Point (Tm) وبالتالى درجة مرونه أو

سيوله fluidity الأغشية البيولوجية. فالزيادة النسبية للأحماض الدهنيه المشبعه ترفع درجة الإنصهار وصلابه الأغشية، بينما زيادة نسبة الأحماض الدهنيه غير المشبعه تخفض درجة الإنصهار وبالتالى تزيد مرونه الأغشية البيولوجية. وطول السلسلة الهيدروكربونيه للأحماض الدهنيه تؤثر أيضا على نقطة الإنصهار (صفحة ١٢٣)، فزيادة طول السلسلة ترفع درجة الإنصهار وتزيد صلابه الغشاء، بينما إنخفاض طول السلسلة يخفض درجة الإنصهار ويزيد مرونه الغشاء.

الكائنات غير مميزه النواه تُنظِّم مرونه أغشيتها بتغيير عدد الروابط المزدوجة وطول السلاسل الهيدروكربونية للأحماض الدهنيه. مثال ذلك أن نسبة الأحماض الدهنيه المشبعه إلى غير المشبعه فى أغشية بكتريا القولون تنخفض من ١,٦ إلى ١ بإنخفاض درجة حراره بيئة النمو من ٤٢°م إلى ٢٧°م.

فى الكائنات مميزه النواه يمثل الكولسترول عامل التنظيم الأساسى فى مرونه الأغشية. فيمنع الكولسترول تبلور السلاسل الهيدروكربونيه بتخلله بين هذه السلاسل، كما ان هناك تأثير مضاد للكولسترول وهو تقييد الحركة الكبيرة للسلاسل الهيدروكربونيه للأحماض الدهنيه ويجعل بذلك الأغشية أقل مرونة.

تنظيم مرونة الأغشية البيولوجية يعتبر ذات أهمية بيولوجية للكائنات الحية، فانخفاض درجة حراره بيئة النمو إن لم يقابله تغيير نقطة إنصهار الأغشية، سوف يؤدى إلى صلابه الأغشية وفقدها لنشاطها البيوكيميائى.

الأغشية البيولوجية تقوم بوظائف متعددة

من الواضح أن الأغشية البيولوجية ليست تركيبات خاملة، ولكنها تقوم بوظائف حركية متعددة ولها خصائص بيولوجية فريدة. وبينما تشكِّل ليبيدات الغشاء حاجز نفاذية وبذلك تكوِّن نطاق مغلق، فإن بروتينات الغشاء المختلفة تقوم بوظائف الغشاء المميزه مثل عمليات النقل عبر الغشاء والاتصال بين الخلايا ونقل وتوليد الطاقة.

فالأغشية تعطى الخلايا خصوصيتها الذاتيه وذلك بفصلها عن الوسط المحيط. فتعمل الأغشية كحواجز ذوات نفاذية انتقائية لاحتوائها على مضخات pumps وبوابات gates

التى تعمل كأنظمة نقل متخصصة. وأنظمة النقل هذه تنظم المحتوى الجزيئى والأيونى للوسط الداخلى للخلية. تحتوى خلايا مميزه النواه أيضا على أغشية داخلية التى تحد العضيات الخلوية من الخارج مثل الميتوكوندريا والكوروبلاست والليسوسومات. والتخصص الوظيفى لمثل هذه العضيات يرتبط بقوه بالأغشية فيها.

تُنظِّم الأغشية البيولوجية أيضا سريان المعلومات بين الخلايا والوسط المحيط. فتحتوى الأغشية على مستقبلات receptor خاصة بالمستحثات الخارجية. فتحرك البكتريا فى إتجاه مصدر المادة المغذيه (الانتحاء الكيميائى chemotaxis)، واستجابه الخلايا المستهدفه للهورومونات مثل الانسولين، هى نماذج من العمليات التى تكون الاحداث الأولى فيها هو الكشف عن الاشاره بواسطة مستقبل خاص فى الغشاء. ويلى ذلك ان بعض الأغشية يمكن أن تولِّد بدورها اشارات التى قد تكون اشارات كيميائية أو كهربيه، وعلى ذلك فإن الأغشيه تلعب دوراً مهماً فى الاتصال البيولوجى.

إن أهم نظامين لتوليد الطاقة فى الأنظمة البيولوجية يوجدا فى الأغشية التى تحتوى على مجموعه عاليه التنظيم من الانزيمات والبروتينات الأخرى. فالبناء الضوئى الذى يتم فيه تحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة الروابط الكيميائية يحدث فى الغشاء الداخلى للكلوروبلاست، بينما الفسفره المصاحبة للاكسده الذى يتم فيها تكوين الادينوزين ثلاثى الفوسفات ATP باكسده جزيئات الوقود، تتم فى الغشاء الداخلى للميتوكوندريا. وهذه العمليات سوف نناقشها بالتفصيل فى الجزء الثانى من هذا الكتاب.

تختلف الأغشية فى محتواها من البروتين. فالمايلين وهو الغشاء العازل حول بعض الالياف العصبية يحتوى على ١٨ ٪ بروتين، بينما الليبيدات التى تشكِّل المكون الأساسى تكون مناسبة كعنصر عازل. الغشاء البلازمى لمعظم الخلايا الأخرى يكون نشط ويحتوى على حوالى ٥٠ ٪ بروتين، بينما الأغشية التى تساهم فى توليد الطاقة مثل الأغشية الداخلية للميتوكوندريا والكوروبلاست تحتوى على نسبه أعلى (حوالى ٧٥٪) من البروتين.

obeikandl.com

المراجع

Ansell, G.B., J.N. Howthorne, and R.M.C. Dawson : Form and Function of Phospholipids, 2nd ed., Elsevier, New York, 1973.

Burton, R. M., and F.C. Guerro, (eds.) : Fundamentals of Lipid Chemistry, Webster Groves, Missouri, Bi - Science Publication Division, 1972.

Christie W.W. : Lipid Analysis, Oxford, Pergamon Press, 1972.

Conn, E.E., P.K. Stumpf, G. Bruening, and R.H. Doi : Outlines of Biochemistry, 5th ed., John Wiley & Sons, New York, 1987.

Curr, A.I., And A.T.James : Lipid Biochemistry : An Introduction, 3rd ed., Methuen, New York, 1980.

Harrison, R., and G.G. Lunt : Biological Membranes, Their Structure and Function, 2 nd ed., Halsted, New York, 1980.

Lehninger, A.L. : Principles of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

Singer, S.J. and G.L. Nicolson : "The Fluid Mosaic Modes of the Structure of Membranes" Scince, 175 : 720 - 731 (1972).

Strayer, L. : Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

obeikandl.com

تمارين

١ ـ إرسم الصيغة البنائية للأحماض التالية :

(أ) $16 : 2^{\Delta 6,9}$

(ب) $14 : 3^{\Delta 7,10,13}$

٢ ـ درجة الإنصهار لسلسلة من الأحماض الدهنيه التى تحتوى على ١٨ ذره كربون هى : حمض ستياريك (٦٩,٦°)، حمض أولييك (١٣,٤°)، حمض لينولييك (ـ٥°)، وحمض لينولينيك (ـ١١°). ما هى الخصائص التركيبية لهذه الأحماض التى تعكس هذا الاختلاف فى درجة الإنصهار.

٣ ـ ما هو عدد ثلاثى الجليسريد (ثلاثى أسايل جليسرول) المختلفة التى يمكن أن تتكون من الجليسرول وثلاثة من الأحماض الدهنيه المختلفة (بالمتيك، ستياريك، أولييك).

٤ ـ ما هى أسماء نواتج تحلل المركبات التالية باستخدام هيدروكسيد الصوديوم المخفف

(أ) ١ ـ ستياريل ـ ٢، ٣ ـ داى بالموتيل جليسرول

(ب) ١ ـ بالموتيل ـ ٢ـ أولييل فوسفاتيديل كولين.

٥ ـ تتميز نباتات المناطق الجافة بوجود طبقة من الشموع على أوراقها ـ كيف تساعد طبقة الشمع هذه فى بقاء النباتات تحت هذه الظروف.

obeikandl.com

٦ ـ تحتوى الليبيدات القطبية على وحده كارهه للماء ووحده محبه للماء مما يجعلها جزيئات مزدوجة الخواص ـ فى الليبيدات التالية حدد أى من الوحدات فى الجزئ تكون كارهه للماء وأى من الوحدات تكون محبة للماء:

(أ) فوسفاتيديل كولين

(ب) سفنجوميلين

(جـ) جلاكتوسيربروسيد

(د) جانجلوسيد

obeikandl.com

فصل ٥

الأحماض النووية

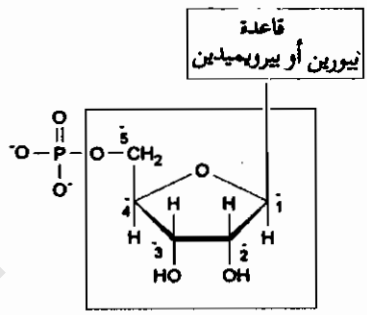
Nucleic Acids

الأحماض النووية مبلمرات ذات أوزان جزيئية عالية، توجد فى جميع خلايا النظام الحى حيث تُشكِّل ٥ ـ ١٥ ٪ من الوزن الجاف لهذه الأنظمة. تقوم الأحماض النووية بخزن المعلومات الوراثية ونقلها للأجيال المتعاقبة للكائن الحى، كما تقوم أيضا بترجمة هذه المعلومات الوراثية بإبتناء بروتينات مميزه لكل خليه. وقد سميت بهذا الاسم لأنها فُصلت أولا من أنوية الخلايا، لكن إتضح بعد ذلك أنها تُوجد فى أجزاء أُخرى من الخلية مثل الميتوكوندريا والكلوروبلاست كما توجد أيضا فى الفيروسات.

النيوكليوتيدات هى الوحدات البنائية للأحماض النووية

يوجد نوعان مختلفان كيميائيا ووظيفيا من الأحماض النووية هما حمض دى أوكسى ريبونيوكييك deoxyribonucleic acid (DNA) ، وحمض ريبونيوكلييك ri-bonucleic acid (RNA) . ورغم أن كلا النوعين عباره عن مبلمرات ذات أوزان جزيئية عالية جداً إلاَّ أن تركيب هذه الجزيئات مبْنى على أسس بسيطة نوعاً ما، فهى مؤلفة من وحدات بنائية متكرره تُعرف بالنيوكليوتيدات nucleotides. ويحتوى كل من DNA و RNA على أربعة أنواع مختلفة من النيوكليوتيدات. يتألف كل نيوكليوتيد من ثلاثة عناصر: (١) قاعدة نتروجينية، (٢) سكر خماسى (بنتوز)، (٣) حمض فوسفوريك، والتى ترتبط مع بعضها كما هو موضح فى شكل (٥ ـ ١). فترتبط

القاعدة برابطة N-جلايكوسيديه مع ذره الكربون الأولى (C-1`) فى السكر، أما حمض الفوسفوريك فيتحد بشكل إستر فوسفاتى مع ذره الكربون الخامسة (C-5`) فى السكر.



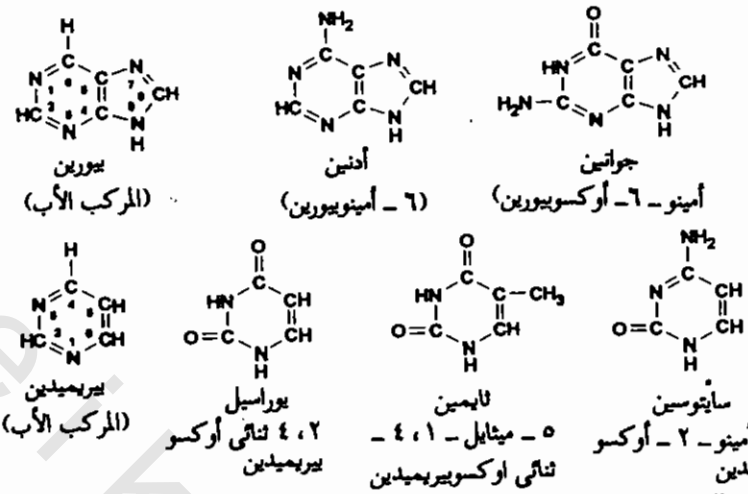
شكل ٥ ـ ١

التركيب العام للنيوكليوتيدات. التركيب الموضح هو ريبونيوكليوتيد. فى دى أوكسى ريبونيوكليوتيد تستبدل مجموعة OH على C_2` فى سكر الريبوز بذره H.

القواعد والنيوكليوسيدات والنيوكليوتيدات

القواعد النتروجينية فى وحدات النيوكليوتيد هى مشتقات لمركبين من المركبات الحلقية غير المتجانسة بيورين Purine وبيريميدين Pyrimidine (شكل ٥ ـ ٢). ويحتوى DNA على أربع قواعد مختلفة اثنين بيورين هما أدنين adenne (A) وجوانين gua-nine (G) واثنين بيريميدين هما سايتوسين cytosine (C) وثايمين thymine (T). يحتوى RNA أيضا على قواعد البيورين أدنين وجوانين، بينما يحتوى على قواعد البيريميدين سايتوزين ويوراسيل uracil (U) . على ذلك فإن الإختلاف الوحيد بين قواعد DNA و RNA هو إحتواء DNA على قاعده ثايمين بينما يحتوى RNA بدلا منها على قاعده يوراسيل.

المركب الناتج من ارتباط القاعده بالسكر يعرف بالنيوكليوسيد nucleoside، ويكون السكر إما D- ريبوز (D-ribose) أو ٢` ـ دى اوكسى -D- ريبوز (2` - deoxy - D - ribose). وفى النيوكليوسيد ترتبط ذره الكربون الاولى (C-1`) فى السكر مع ذره النتروجين الأولى (N-1) فى قاعده البيرويميدين أو ذره النتروجين التاسعة (N-9) فى قاعده البيورين. والهيئة الفراغية لهذه الرابطة N- جلايكوسيديه تكون بيتا (β) فى النيوكليوسيدات الطبيعية.

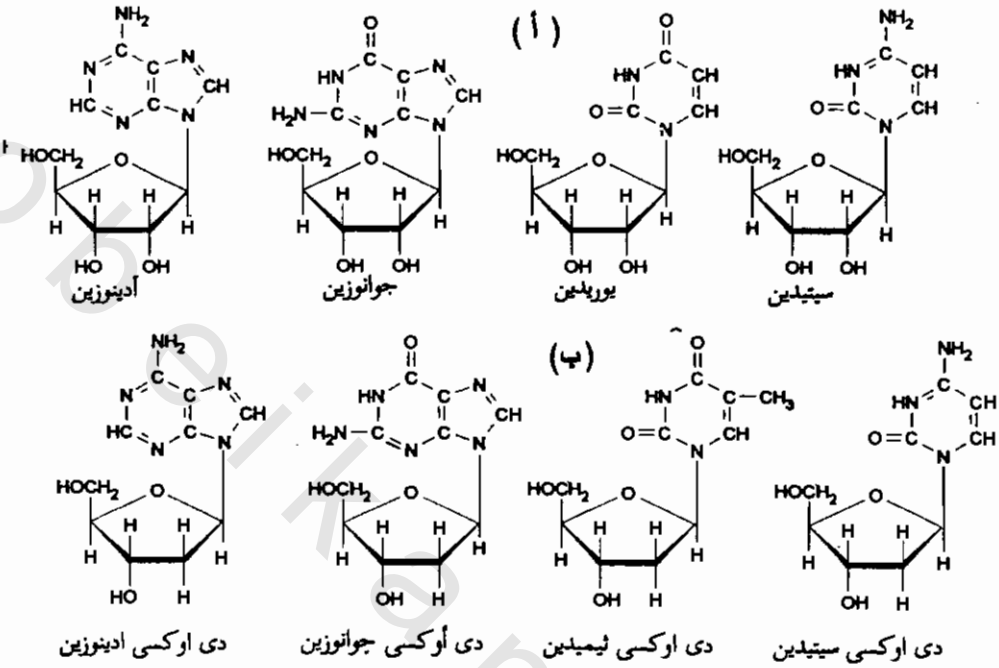


شكل ٥ ـ ٢

تركيب قواعد البيورين والبيريميدين الداخله فى تركيب الأحماض النووية DNA و RNA

فى الريبونيوكليوسيد ribonucleoside فان السكر يكون ريبوز، بينما فى دى اوكسى ريبونيوكليوسيد deoxyribo nucleoside يكون السكر دى أوكسى ريبوز. والريبونيوكليو ـ سيدات الأساسيه هى الادينوزين adenosine، جوانوزين guanosine، يوريدين uridine وسيتيدين cytidine. أما دى اوكسى ريبونيوكليوسيد الأساسية فتشمل دى اوكسى ادينوزين deoxyadenosine، دى اوكسى جوانوزين deoxyganosine، دى اوكسى ثيميدين deoxuthymidine، ودى اوكسى سيتيدين deoxycitidine. ويوضح شكل (٥ ـ ٣) تركيب هذه النيوكليوسيدات.

النيوكليوتيد nucleotide هو استر الفوسفات للنيوكليوسيد، حيث تكون مجموعة هيدروكسيل على الأقل فى وحده السكر مؤستره. وأكثر المواضع الشائعة للاستره هو مجموعة الهيدروكسيل على ذره الكربون الخامسة C-5` فى السكر، ومثل هذا المركب يسمى نيوكليوسيد ـ ٥` ـ فوسفات nucleoside 5` - phosphate أو ٥` ـ نيوكليوتيد 5`- nucleotide . والأرقام المميزه بعلامه تستخدم لترقيم ذرات السكر، بينما الأرقام غير المميزه بعلامه تستخدم لترقيم ذرات القاعدة.



شكل ٥ ـ ٣

(أ) تركيب الريبونيوكليوسيدات الرئيسية

(ب) تركيب دى اوكسى ريبونيوكليوسيدات الرئيسية

والنيوكليوتيد المشتق من أستره مجموعة الهيدروكسيل الخامسة (5`OH) فى الادينوزين يعرف بالادينوزين `٥ ـ فوسفات adenosine 5`- phosphate الذى غالبا ما يطلق عليه أدينلات adenylate أو حمض الادنيليك adenulic acid ، لكن يفضل استخدام اسم ادنيلات نظرا لأن مجموعه الفوسفات تكون متأينه عند الرقم الهيدروجينى الفسيولوجى. والاختصار القياسى لهذا المركب هو AMP (من Adenosine mono- phosphate ). والاسماء الشائعة لـ `٥ ـ ريبو نيوكليوتيدات الأخرى هى جوانيلات guanylate (GMP) ويوريديلات Uridylate (UMP) وسيتيديلات Cytidylate (CMP) . أما اسماء `٥ ـ دى اوكسى ريبونيوكليوتيدات 5`- deoxyribonucleotides الرئيسية هى دى اوكسى ادنيلات (dAMP) ودى اوكسى جوانيلات (dGMP) ودى اوكسى ثميديلات (dTMP) ودى اوكسى سيتيديلات (dCMP) .

فى النيوكليوسيد ٥` ـ ثنائى الفوسفات nucleoside 5`- diphosphate تؤستر مجموعه ثنائية الفوسفات إلى مجموعه الهيدروكسيل الخامسة فى السكر، بينما فى النيوكليوسيد ٥` ـ ثلاثى الفوسفات nucleosid 5`- triphosphate فإن مجموعه ثلاثيه الفوسفات ترتبط بمجموعه الهيدروكسيل هذه. وعلى ذلك فإن سلسلة ريبونيوكليوتيدات الأدنين يطلق عليها ادينوزين ٥` ـ أحادى الفوسفات (AMP) وادينوزين ٥` ـ ثنائى الفوسفات (ADP) وادينوزين ٥` ـ ثلاثى الفوسفات (ATP). ودى اوكسى ريبونوكليوتيد المقابله هى دى اوكسى ادينوزين ٥` ـ أحادى الفوسفات (dAMP) ودى اوكسى ادينوزين ٥` ـ ثنائى الفوسفات (dADP) ودى اوكسى أدينوزين ٥` ـ ثلاثى الفوسفات (dATP). ويلخص جدول (٥ ـ ١) أسماء القواعد والنيوكلوسيدات والنيوكليوتيدات.

جدول ٥ ـ ١
أسماء القواعد والنيوكليوسيدات والنيوكليوتيدات

القاعدة	الريبونيوكليوسيد	الريبونيوكليوتيد (٥` ـ أحادى الفوسفات)
ادنيـــن (A)	ادينوزيـن	ادنيـــلات (AMP)
جوانيـن (G)	جوانوزين	جوانيـــلات (GMP)
يوراسيـــل (U)	يوريديـن	يوريديلات (UMP)
سيتوزين (C)	سيتيديـن	سيتيديلات (CMP)
القاعدة	**دى اوكسى ريبونيوكليوسيد**	**دى اوكسى ريبونيوكليوتيد (٥` ـ أحادى الفوسفات)**
ادنيـــن (A)	دى اوكسى ادينوزين	دى اوكسى أدنيـــلات (dAMP)
جوانيـن (G)	دى اوكسى جوانوزين	دى اوكسى جوانيـــلات (dGMP)
ثيميـــن (T)	دى اوكسى ثيميدين	دى اوكسى ثيميديلات (dTMP)
سيتوزين (C)	دى اوكسى سيتيدين	دى اوكسى سيتيديلات (dCMP)

RNA و DNA يحتويان على نيوكليوتيدات مختلفة

يحتوى DNA على أربعه أنواع مختلفه من دى اوكسى ريبونيوكليوتيدات وهى دى

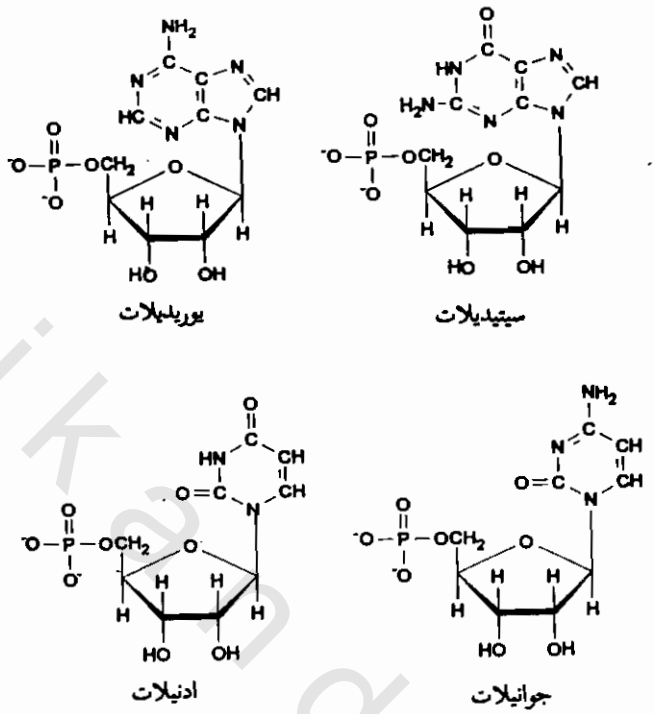
اوكسى ادنيلات (dAMP) ودى اوكسى جوانيلات (dGMP) ودى اوكسى ثيميديلات (dTMP) ودى اوكسى سيتيديلات (dCMD) ، بينما يحتوى RNA على الريبونيوكليوتيدات الأربعه ادنيلات (AMP) وجوانيلات (GMP) ويوريديلات (UMP) وسيتيديلات (CMP) . وهذه النيوكليوتيدات تعمل كوحدات بنائية وشفرات وراثيه. ويوضح شكل ٥ ـ ٤ تركيب هذه النيوكليوتيدات.

بالإضافة إلى وحدات النيوكليوتيد التى تحتوى على القواعد الأربعة الأساسية، فإن DNA يحتوى أيضا على بعض القواعد الثانوية، وعادة ما تكون القواعد الثانوية مشتقات ميثيليه للقواعد الأساسية، مع ذلك فإن بعض القواعد فى جزيئات DNA الفيروسية تكون مرتبطة مع مجموعه هيدروكسى أو ميثايل أو جلوكوز. ومثل هذه القواعد المحوّرة أو الثانوية لها دور مهم فى حماية المعلومات الوراثية. ويوجد أيضا بعض القواعد الثانوية فى جزيئات RNA خاصة RNA الناقل (transfer RNA).

بالإضافة إلى أن النيوكليوتيدات تعمل كوحدات بنائية للأحماض النووية فإن لها دوراً مهماً فى مجالات مختلفة من أيض الخلايا، فعلى سبيل المثال يعمل الأدينوزين ثلاثى الفوسفات كحامل عام للطاقة فى الأنظمة الحية. كما أن نيوكليوتيدات الأدنين تعتبر أيضا عناصر بنائية فى كثير من المرافقات الانزيمية.

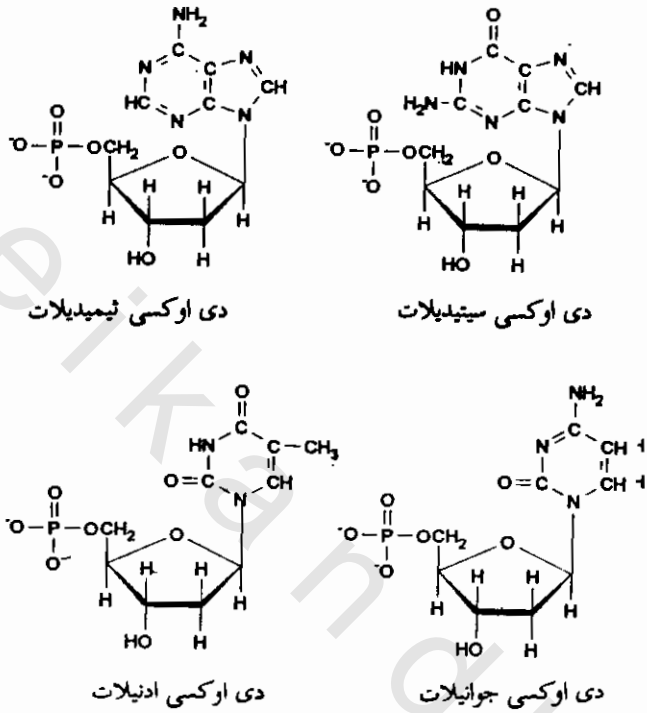
رابطة الفوسفات ثنائية الاستر تربط النيوكليوتيدات فى الأحماض النووية

ترتبط النيوكليوتيدات المتتابعة فى كل من DNA و RNA ببعضها تساهميا بواسطة جسور من مجموعات الفوسفات. فمجموعه الهيدروكسيل على ذره الكربون رقم ٥` فى سكر أحد النيوكليوتيدات ترتبط مع مجموعه الهيدروكسل على ذره الكربون رقم ٣` فى سكر النيوكليوتيد التالى بواسطة ارتباط فوسفاتى ثنائى الاستر (شكل ٥ ـ ٥). وعلى ذلك فإن هيكل الأحماض النووية يتكون من وحدات فوسفات وسكر متتابعة، بينما يمكن إعتبار القواعد كمجموعات جانبية مرتبطة بالهيكل الأساسى على مسافات منتظمة. وكما نرى فإن جزيئات DNA و RNA تحتوى على هيكل من السكر والفوسفات لا يتغير وإنما ينحصر الإختلاف فى أنواع القواعد المتصلة بهذا الهيكل وفى



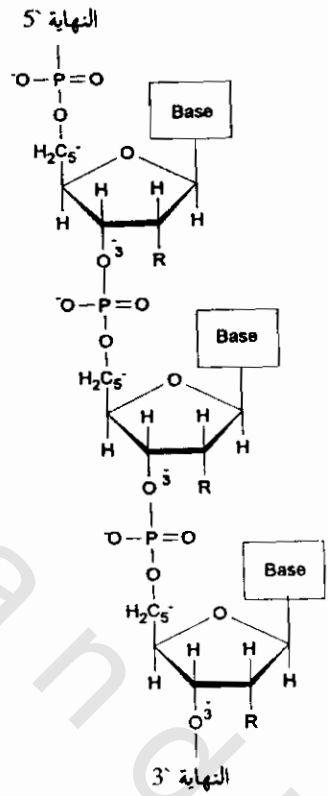
شكل ٥ ـ ٤

(أ) تركيب وحدات ريبونيوكليوتيد الاربعة الموجودة فى RNA .



شكل ٥ ـ ٤

(ب) تركيب وحدات دى اوكسى ريبونيوكليوتيد الأربعة الموجودة فى DNA .



شكل ٥ ـ ٥

الهيكل الأساسى لجزيئات DNA و RNA مُوضحا فيه رابطة الفوسفات ثنائية الإستر التى ترتبط بين النيوكليوتيدات المتتابعه (R = H فى DNA و R = OH فى RNA).

نظام تتابعها. ومن هنا فإن أى معلومات وراثية (الشفرات الوراثية) تحملها هذه الجزيئات لابد وأن تكون مرتبطة بهذا التنوع والتتابع. ونظرا لكبر جزيئات DNA فإن هناك متسعا لكثير من المعلومات.

حمض دى اوكسى ريبونيوكلييك

فى الخلايا أولية النواه يوجد DNA عادة فى هيئة حلزون مزدوج حلقى، والذى يرتبط جزئياً بالجانب الداخلى لغشاء البلازما، ولكن لم يتأكد وجوده فى صوره مرتبطة مع

obeikandl.com

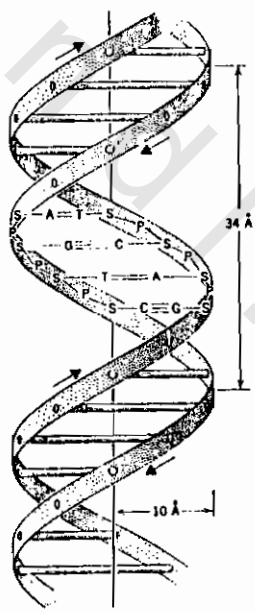
البروتين. بالمقارنه فإن ٩٨ ٪ من DNA الكلى فى الخلايا مميزه النوى يوجد فى أنوية هذه الخلايا فى هيئة حلزون مزدوج خطى مرتبط ببروتينات قاعديه تعرف بالهستونات، ويسمى معقد DNA مع الهستون بالكروماتين. وتوجد دائما كمية صغيره من DNA فى ميتوكوندريا وكلوروبلاست الخلايا مميزه النواه وذلك على هيئة حلزون حلقى خالى من البروتين.

أحماض دى أوكسى ريبونيوكلييك (DNA) هى الجزيئات الحاملة للمعلومات الوراثية فى صورة تتابع منتظم من القواعد. وهذه المعلومات الوراثية تُنقل إلى الأجيال التالية بواسطة عملية التكرر، بينما يتم التعبير عنها فى الخلية فى صورة بروتينات مميزه وذلك بعملية النسخ والترجمة.

جزئ DNA يتألف من سلسلتين متتامتين يرتبطان مع بعضهما بروابط هيدروجينيه بين القواعد

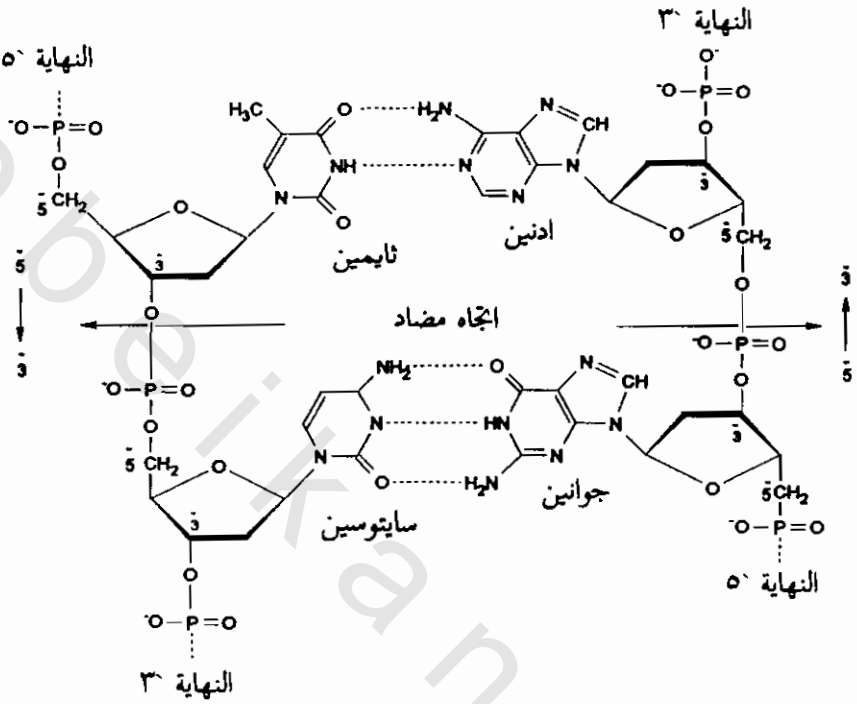
تختلف جزيئات DNA المفصوله من كائنات مختلفة فى محتواها من القواعد، وبالرغم من هذا الإختلاف فإن التحليل الدقيق لهذه النتائج أوضح أن معظم جزيئات DNA تحتوى على كمية من الأدنين (A) مساويه تقريبا لكمية الثايمين (T)، وكمية جوانين (G) مساويه تقريبا لكمية سايتوسين (C) . ولقد استند واطسون Watson وكريك Crick عام ١٩٥٣ إلى هذه المعلومات وكذلك إلى ما دلّت عليه دراسة جزيئات DNA بالأشعة السينية وأقترحا أن جزئ DNA يوجد على هيئة حلزن مزدوج double helix . وبموجب هذا النموذج فإن سلسلتى DNA تلتفان حول محور مشترك وتحتل أزواج القواعد الجانب الداخلى للحلزون بينما يحتل الهيكل المكون من السكر والفوسفات الجانب الخارجى، ويُثبّت هذا البناء روابط هيدروجينيه بين القواعد المتقابله فى السلسلتين (شكل ٥ ـ ٦). وفى هذا الحلزون تُشكّل كل عشرة أزواج من النيوكليوتيدات المتتابعه دوره كامله فى مسافة ٣٤ أنجستروم، ويبلغ العرض الخارجى للحلزون حوالى ٢٠ أنجستروم بينما تبلغ المسافة الداخلية بين موقعى `C-1 فى وحدتى السكر على السلسلتين حوالى ١١ أنجستروم.

وبإستخدام نماذج جزيئية تُبيِّن النسب الصحيحة لحجوم الذرات وأطوال الروابط أوضح واطسون وكريك أن الروابط الهيدروجينية يمكن أن تنشأ فقط بين القواعد فى السلسلتين المزدوجتين إذا كانت السلسلتان فى إتجاه متضاد، كما أن المسافة الداخلية فى الحلزون المزدوج تسمح فقط بنشوء روابط هيدروجينية بين قواعد البيورين والبيريميدين بحيث يرتبط الأدنين مع الثايمين بواسطة اثنين من الروابط الهيدروجينية، بينما يرتبط الجوانين بالسايتوسين بثلاث روابط هيدروجينية (شكل ٥ ـ ٦). ولا تحدث إزدواجات بيورين ـ بيورين لأنها أكبر من أن تتطابق مع المسافة الدخلية، كما أنه لا يحدث إزدواج قواعد بيريميدين ـ بيريميدين لأنها تكون بعيده إلى حد لا يسمح بإنشاء روابط هيدروجينية. وتتفق هذه الإزدواجات المحدده مع النسب الجزيئية التى ذكرت من قبل وهى أن $\frac{T}{A} \simeq ١$ و $\frac{C}{G} \simeq ١$.



شكل ٥ ـ ٦

(أ) نموذج الحلزون المزدوج لجزئ DNA



شكل ٥ ـ ٦

(ب) جزء من DNA الحلزون المزدوج موضحا الإتجاه المضاد للسلسلتين

وفى نموذج الحلزون المزدوج لـ DNA يكون هيكل فوسفات ـ سكر منتظما بشكل كامل لكن يمكن أن يدخل عليه أى تتابع لازواج القواعد. ويتبع ذلك أنه فى الجزئ الطويل تكون هناك إحتمالات كثيرة لتتابع القواعد ـ ولذلك يبدو أن التتابع الدقيق للقواعد يمثل الشفره التى تحمل المعلومات الوراثية. فلو عرفنا تتابع القواعد على سلسلة من السلسلتين فإننا نستطيع أن نكتب التتابع الدقيق على السلسلة الأخرى إستناداً على الإزدواج المحدد. وهكذا يبدو وكأن كل سلسلة تكمل الأخرى وهذا المظهر يوحى بالكيفية التى يستطيع بها جزئ دى أوكسى ريبونيوكلييك من استنساخ نفسه.

هيئات DNA (Forms of DNA)

١ ـ الهيئة A لـ DNA (A-DNA)

DNA حلزون مزدوج يمينى يحتوى على حوالى ١١ نيوكليوتيد لكل دورة. ويكون

مستوى ازواج القواعد فى هذا الحلزون المزدوج اليمينى منحرفا بـ ٢٠ درجة عن المستوى العمودى على محور الحلزون، ويتكون بإزالة الماء من الهيئة B لـ DNA (B-DNA).

٢ ـ الهيئة B لـ DNA (B-DNA)

وهو نموذج الحلزون المزدوج التقليدى لواطسون وكريك والذى يحتوى على ١٠ نيوكليوتيدات لكل دورة. ويكون مستوى القواعد فى هذا الحلزون المزدوج اليمينى عمودية على محور الحلزون.

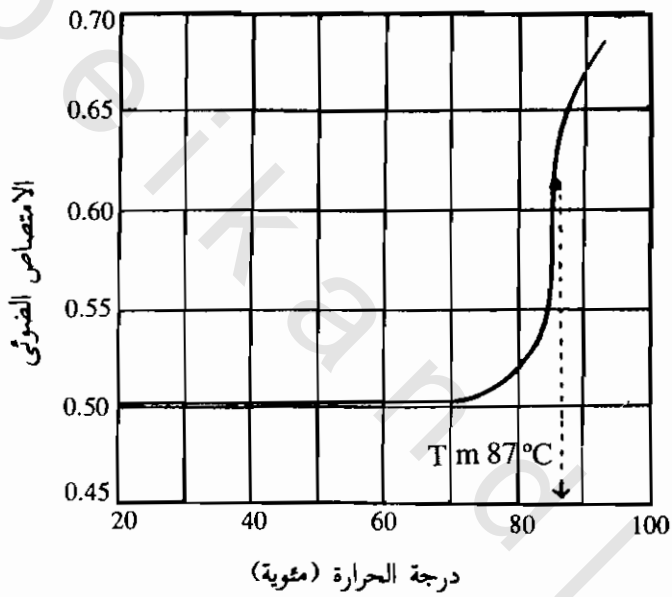
٣ ـ الهيئة Z لـ DNA (Z-DNA)

حلزون مزدوج يسارى يحتوى على ١٢ نيوكليوتيد لكل دورة. ولقد اقترحت هذ الهيئة بواسطة Alexander Rich ومساعدة على أساس التركيب البللورى لـ $d(CG)_3$.

بعض الخواص الفيزيائية لجزيئات DNA تعكس إزدواج القواعد والمحتوى النسبى لازدواج القواعد $G \equiv C$ و $A = T$

عند تسخين محلول من DNA الطبيعى فإنه يتحول من هيئة الحلزون المزدوج إلى هيئة متغيره ذات التفاف عشوائى نتيجة لتفكك الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد $G \equiv C$ و $A = T$ فى جزئ DNA . هذا التغير يكون مصحوبا بإرتفاع إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية وإنخفاض فى لزوجة محلول DNA . فعند تسخين عينه من محلول DNA المفصول من الفيروس البكتيرى ت٢ (bacteriophhage T_2) وتسجيل الإمتصاص الضوئى عند ٢٦٠ نانوميتر كداله فى درجة الحراره يلاحظ ثبات الإمتصاص حتى درجة ٧٥°م، ثم يرتفع بمقدار ٣٥ ـ ٤٠ ٪ فى مدى أربع درجات، ويصل بعد ذلك إلى إمتصاص الضوء المميز لجزئ DNA وحيد السلسلة (شكل ٥ ـ ٧). هذا التغير الحاد فى إمتصاص الضوء يشير إلى أن إنصهار الحلزون المزدوج هو ظاهرة تعاونيه، بمعنى أنه عندما تبدأ قواعد قليلة فى الإنفصال فإن ذلك يُسهّل تفكك الروابط الهيدروجينية من أزواج القواعد المجاورة. يُطلق على درجة الحراره التى يكتمل عندها نصف عملية التحول من الهيئة المزدوجة إلى الهيئة وحيدة السلسلة بدرجة الإنصهار ويرمز لها بالرمز Tm.

ودرجة حرارة الإنصهار تكون ثابته لكل نوع من أنواع DNA وتتوقف قيمتها على محتواها من G ≡ C . فزياده محتوى DNA من أزواج القواعد G ≡ C يؤدى إلى زيادة درجة الإنصهار والذى يرجع إلى أن أزواج القواعد G ≡ C تحتوى على ثلاثة روابط هيدروجينيه وتحتاج إلى طاقة حرارية أكثر لتفككها عن أزواج القواعد A = T التى تحتوى على رابطتين هيدروجينيتين.



شكل ٥ ـ ٧

تأثير درجة الحرارة على الامتصاص الضوئى النسبى لجزئ DNA المفصول من الفيروس T_2 bacteriophage

عند تبريد محلول DNA المُسخَّن بسرعة فإن إمتصاص الضوء لا يعود للقراءة الأولى وإن كان يقل نسبيا عن المحلول المسخن. وبفحص المحلول المبرد سريعا بالمجهر الالكترونى أو بقياس اللزوجة النسبية يمكن الإستدلال على أن جزء من DNA يكون ملتف عشوائيا. بينما إذا بُرِّدَ المحلول ببطئ (ربما خلال ثلاث ساعات) فإن الامتصاص الضوئى ينخفض للقراءة الأصلية مما يشير إلى أن DNA إستعاد تركيبه الحلزونى المزدوج وذلك بأزدواج القواعد. وقد أطلق على عملية التسخين والتبريد البطئ اصطلاح الالتحام an-

nealing وقد أمكن إثبات أن DNA المعامل بهذه الطريقة يحتفظ بخواصه الحيوية. ولقد أستخدمت خاصية الالتحام أساساً لإختبار مدى توافق أو تكامل سلسلتين من DNA ويعرف الاختبار بإسم أختبار التهجين hyperdization test.

أحماض ريبونيوكلييك

النوع الثانى من الأحماض النووية فى الخلايا الحية هو أحماض ريبونيوكلييك (RNA)، والتى تختلف عن أحماض DNA فى إحتوائها على قاعدة يوراسيل بدلا من قاعده ثايمين وكذلك على سكر ريبوز بدلا من سكر دى أوكسى ريبوز.

بخلاف DNA نجد أن كمية أدنين فى RNA لا تساوى كمية اليوراسيل فى كثير من الحالات، كذلك تختلف كمية الجوانين عن كمية السيتوزين، وهذا يشير إلى وجود أغلب جزيئات RNA كسلاسل ريبونيوكليوتيديه فرديه غير مزدوجة. ونتيجة لغياب الإرتباط الهيدروجينى المنتظم نجد أن هذه الجزيئات وحيدة السلسلة ليس لها تركيب منتظم مثل DNA .

توجد ثلاثة أنواع من جزيئات RNA كل منها يعمل كأداه لربط المعلومات الوراثية من DNA وهو الجزئ الحامل للمعلومات والبروتين وهو ناتج التعبير لهذه المعلومات. فالمعلومات الوراثية تتدفق على النحو التالى

$$DNA \rightarrow RNA \rightarrow Protein$$

يوجد DNA فى نواه الخلية فى الخلايا مميزه النواه بينما يتم بناء البروتين فى السيتوبلازم، ولذلك فإن البناء الحيوى للبروتينات يستلزم حدوث عمليتين أساسيتين أحدهما داخل النواه والأخرى فى السيتوبلازم. العملية الأولى تشمل نسخ transcrip-tion الرسالة الوراثية من DNA فى هيئة نوع معين من RNA يسمى RNA الرسول massenger RNA (يختصر إلى mRNA). أما العملية الثانية وهى بناء البروتينات فتتم فى السيتوبلازم وتحتاج إلى نوعين آخريين من RNA هما RNA الريبوسومى riboso-mal RNA (يختصر إلى rRNA) و RNA الناقل transfer RNA (يختصر إلى tRNA).

حمض ريبونيوكلييك الرسول يقوم بنقل الرسائل الوراثية من النواه إلى الريبوسوم

يتم نسخ RNA الرسول (mRNA) إنزيميا على DNA فى النواه حيث تُنقل المعلومات الوراثية من DNA إلى mRNA فى صورة تتابع محدد للقواعد النتروجينيه فى جزئ mRNA . ينتقل mRNA إلى الريبوسومات فى السيتوبلازم حيث يُوجه تتابع الأحماض الأمينيه فى سلسلة عديد الببتيد أثناء بناء البروتينات، وبذلك فإن جزيئات mRNA تقوم بحمل المعلومات الوراثية (الشفرات) من النواه إلى السيتوبلازم وكذلك تعمل كقوالب template لبناء البروتينات. يوجد جزئ mRNA مقابل لكل جين أو مجموعة من الجينات لذلك توجد أنواع عديده من جزيئات mRNA التى تختلف فى وزنها الجزيئى وفى تتابع القواعد، ولكن كل جزيئات mRNA تتكوّن دائما من سلسلة فردية.

حمض ريبونيوكلييك الريبوسومى يعمل كعنصر بنائى ووظيفى فى الريبوسومات

يُشكل RNA الريبوسومى (rRNA) حوالى ٦٥٪ من وزن الريبوسومات، وتوجد عده أنواع من rRNA فى ريبوسومات الخلايا مميزه النواه وريبوسومات الخلايا أولية النوى (جدول ٥ ـ ٢). تحتوى جزيئات rRNA على بناء حلزونى الذى ينتج من إنطواء السلسلة الفردية فى بعض المواضع حيث يكون إحتمال تكوين الروابط الهيدروجينيه مُمكناً، مع ذلك فإن جزيئات rRNA لا توجد فى هيئه حلزون مزدوج. تحتوى الميتوكوندريا والكلوروبلاست على ريبوسومات و rRNA الذى يختلف عن ذلك الموجود فى السيتوبلازم. ورغم أن جزيئات rRNA تمثل جزءاً كبيراً من جزيئات RNA الكلية، فإن الدور الذى تلعبه فى الريبوسومات غير واضح، مع ذلك فإن أحد المهام المقترحة لجزيئات rRNA أنها تربط جزيئات mRNA مع الريبوسومات.

حمض ريبونيوكلييك الناقل يقوم بنقل الأحماض الأمينية إلى الريبوسومات

أحماض ريبونيوكلييك الناقلة (tRNA) لها أوزان جزيئية صغيره نسبيا تبلغ ٢٣,٠٠٠ إلى ٢٨,٠٠٠ ولذلك فهى أكثر ذوباناً عن أنواع RNA الأخرى وكثيرا ما يشار إليها

بأحماض ريبونيوكلييك الذائبة (sRNA). وظيفة جزيئات tRNA هى نقل الأحماض الأمينية من السيتوبلازم إلى مواقع محددة على mRNA المرتبط بالريبوسومات . لذلك فهناك على الأقل عشرون نوعاً من جزيئات RNA الناقلة بواقع نواع واحد على الأقل لكل نوع من الأحماض الأمينية العشرين التى تدخل فى بناء البروتينات.

جدول ٥ ـ ٢

أنواع جزيئات rRNA

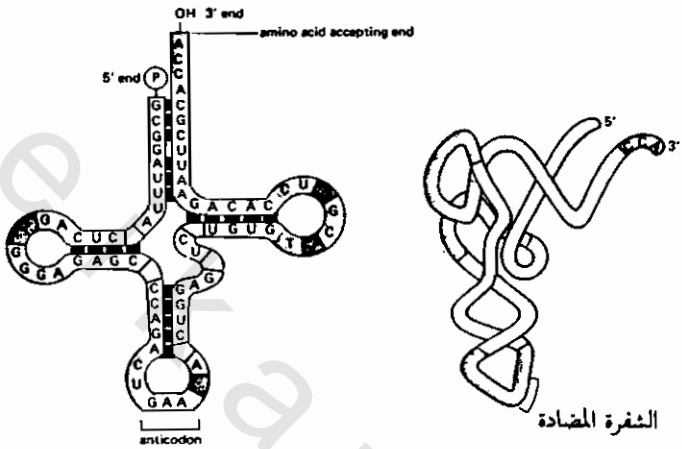
ريبوسومات الخلايا أولية النوى
16S
5S
23S
ريبوسومات الخلايا مميزه النوى
18S
5S
28S

S تشير إلى وحدة سفدبرج Sved-berge وهى وحده مشتقه من سلوك الجزيئات الكبيره في جهاز الطرد المركزى والتى تعبّر عن عامل الترسيب $1S = 10^{-13}$ sec

دلت نتائج الدراسات بالاشعة السينية على أنواع tRNA المختلفة أن حوالى ٦٠ ـ ٧٠٪ من الجزئ توجد فى هيئة حلزونيه، فتنطوى السلسلة الفردية إلى طيات عديده بسبب اذدواج القواعد على طول السلسلة (شكل ٥ ـ ٨). وتنتهى أحد الأطراف دائما بتتابع القواعد سايتوسين ـ سايتوسين ـ أدنين (ACC)، وهذا الطرف هو الذى يتصل بأحد الأحماض الأمينية عن طريق رابطة إستر مع مجموعه الهيدروكسيل الثالثه (OH - 3`) فى سكر نيوكليوتيد الأدنين الطرفى. فى نهاية الطرف المقابل يوجد تتابع قواعد خاص يمكن أن يوصف بالشفره المضاده anticodon ، ولهذه الشفره المضادة أهمية

obeikandl.com

كبيرة حيث تُمكِّن جزيئات RNA الناقلة من الإرتباط مع موضع خاص بها هو الشفره الموجوده على جزئ RNA الرسول. تتابع الأحماض الأمينية فى البروتينات يتحدد إذن بتعاون كل من جزيئات RNA الناقلة وجزيئات RNA الرسول.



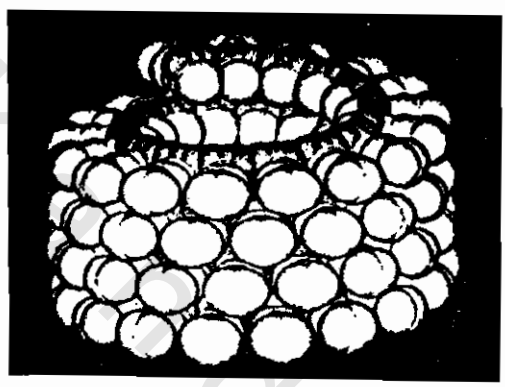
شكل ٥ ـ ٨

رسم تخطيطى للبناء الفراغى ثلاثى الابعاد لجزئ RNA الناقل للحمض الأمينى آلانين فى الخميرة.

الفيروسات أحماض نوويه محاطة بغلاف من البروتين

بالإضافة إلى الأحماض النوويه التى توجد فى جميع الخلايا الحية، فإن هناك مجموعة فريدة من الأحماض النوويه ترتبط بقسم خاص من الجزيئات الكبيرة تدعى الفيروسات Viruses ، ونظرا للإختلاف الكبير فى تركيب الفيروسات فسوف نشير بإختصار إلى بنائها العام. تحتوى كل الفيروسات إما على DNA أو RNA بالإضافة إلى غطاء بروتينى خاص والذى يعمل كهيكل يحمى الحمض النووى بالداخل (شكل ٥ ـ ٩). والفيروسات الأكثر تعقيدا تحتوى أيضا على ليبيدات وكربوهيدرات وبروتين وظيفى أى إنزيمات. والفيروسات التى تم الكشف عنها حتى الآن تحتوى إمّا على DNA أو RNA أى أنها لا تحتوى على DNA و RNA معا. والحمض النووى فى الفيروس يحمل كل

المعلومات الوراثية اللازمة لتكرر (تضاعف) الفيروس كُلِّيّة فى خلايا العائل. الغطاء البروتينى لكل الفيروسات غير معدى وذلك لأن إدخال البروتين فى خلايا العائل لا يؤدى إلى تكوين جسيمات فيروسيه أو هدم خليه العائل. من ناحية أخرى فإن إدخال الأحماض النووية النقية المفصوله من عدة أنواع مختلفة من الفيروسات فى خلايا العائل تؤدى إلى تكرر الحمض النووى للفيروس وكذلك ابتناء البروتين الخاص به. الفيروسات إذن يمكن إعتبارها عناصر وراثية محاطة بغطاء للحماية.



شكل ٥ ـ ٩

رسم تخطيطى لتركيب فيروس تبرقش أوراق الدخان tobacco mosaic virus (TMV)

obeikandl.com

المراجع

Cantor, C.R., and P.R. Schimmel:Biophysical Chemistry, Part 1. The conformation of Biological Macromolecules, San Francisco, Freeman, 1980.

Conn, E.E., P.K. Stumph, G.Bruening and R.H. Doi: Outlines of Biochemistry, 5 th ed., John Wiley & Sons, New York, 1987.

Davidson, J.N.: The Biochemistry of Nucleic Acids, 7th ed., New York, Academic Press, 1972.

Fraenkel - Conrat, H.: The Chemistry and Biology of Viruses, New York, Academic Press, 1969.

Lehninger, A.L. : Principle of Biochemistry, New York, Worth, 1982.

Watson, J. D. : The Double Helix, Atheneum, 1968.

Zubay, G.C (Coord. author) : Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

obeikandl.com

تمارين

١ ـ اكتب التتابع المتمم لـ :

(أ) GATCAA

(ب) TCGAAC

(جـ) ACGCGT

٢ ـ محتوى أحد سلسلتى DNA الحلزون المزدوج (بوحدات أجزاء المول) هى A = ٣, و G = ٢٤,

(أ) ماذا عن [T] و [C] لنفس السلسلة.

(ب) ماذا عن كمية [A] ، [G] ، [T] و [C] للسلسلة الأخرى.

٣ ـ قارن بين RNA و DNA من الأوجه التالية :

(أ) المحتوى الكيميائى.

(ب) البناء الثانوى.

(جـ) مكان وجودهما فى الخلية.

(د) الأنواع المختلفة لكل منهما.

(هـ) الوظائف البيولوجية.

٤ ـ إشرح نوعين من القوى (أو الروابط) التى تشترك فى تثبيت البناء الحلزونى المزدوج لـ DNA .

٥ ـ كيف يؤثر محتوى DNA من القواعد على نقطة الإنصهار Tm .

٦ ـ لماذا ينفصل DNA المزدوج الخطى إلى محتوياته من السلسلتين عند وضعه فى ماء نقى؟

opeikandl.com

فصل ٦

البروتينات

Proteins

تشمل المبلمرات الحيوية ثلاث طوائف رئيسية هى عديدات السكر والأحماض النووية والبروتينات. ومن هذه الطوائف الثلاثة تعد البروتينات أكثرها إنتشاراً حيث تُشكِّل ٥٠٪ أو أكثر من الوزن الجاف لمعظم الخلايا، فتوجد البروتينات فى كل الخلايا وفى جميع أجزاء الخلية. وتوجد أنواع مختلفة من البروتينات فى الأنظمة الحية، فالخلية الواحدة تحتوى على عدّة مئات من البروتينات المختلفة التى تتباين فى وظائفها، فتحدد البروتينات شكل وتركيب الخلية وتعمل كأداه للتعرف الجزيئى والحفز الإنزيمى كما أنها تقوم بنقل الجزيئات البيولوجية وتنظيم الأيض.

بروتين Protein إسم مشتق من الكلمة اللاتينية Proteios†
والتى تعنى الأول أو فى المقام الأول
وقد ابتكر هذه الكلمة Jons J. Berzelius فى عام ١٨٣٨ لتوكيد
أهمية هذا القسم من الجزيئات فى الأنظمة الحية

مع هذا التنوع فى الوظائف لا يُدهشنا أن نرى البروتينات مواداً معقدة البناء تتباين فى حجومها واشكالها، لكن مع هذا التنوُّع فى الشكل والحجم والمهام فإنها فى الحقيقة مبلمرات لمواد بسيطة هى الأحماض الأمينية. فالبروتينات ـ سواء الموجودة فى البكتريا أو فى أكثر صور الحياة تطوراً وهو الإنسان ـ تبنى من عشرين حمضا أمينياً التى ترتبط ببعضها تساهميا فى تتابع مميّز. وهذه الأحماض الأمينية العشرين التى أحيانا يشار إليها بالحروف الأبجدية للبروتين هى التى تحدد بناء وخواص وكذا وظائف البروتينات.

obeikandl.com

البروتينات تقوم بوظائف بيولوجية متعددة ومختلفة

تلعب البروتينات دوراً حاسماً وفعلياً فى جميع العمليات البيولوجية، ويمكن توضيح وظائف البروتينات فى الأنظمة الحية فى أوجه النشاط التالية:

١ ـ الحفز الإنزيمى: تُحفر كل التفاعلات الكيميائية فى الأنظمة الحية تقريبا بواسطة جزيئات تعرف بالإنزيمات. وكل الإنزيمات تظهر قوة حفز كبيرة فهى عادة تزيد معدّل التفاعل بعامل لايقل عن مليون. وفى الحقيقة فإن التحولات الكيميائية نادرة الحدوث بمعدل محسوس فى الخلايا الحية فى غياب الإنزيمات. وقد أمكن التعرف على عدة آلاف من الإنزيمات، والنقطة الملفتة للنظر هو أن كل الإنزيمات المعروفة هى بروتينات. وعلى ذلك فإن البروتينات لها دور فريد فى تحديد نمط التحولات الكيميائية فى الأنظمة الحية.

٢ ـ النقل والتخزين : عدد كبير من الجزيئات الصغيرة والأيونات تنتقل داخل الأنظمة الحية بواسطة بروتينات خاصة. مثال ذلك يقوم الهيموجلوبين hemoglobin فى خلايا الدم الحمراء بنقل الاكسجين من الرئة إلى الأنسجة المختلفة، بينما الميوجلوبين myoglobin وهو بروتين مشابه يقوم بنقل الاكسجين فى العضلات. كما يحمل الحديد فى بلازما الدم بواسطة بروتين ترانس فيرّين transferrin، بينما يخزن فى الكبد فى صورة معقدة مع بروتين آخر هو فيرّيتين ferritin.

٣ ـ تنظيم الأيض والنمو والتميُّز : تُشارك بعض البروتينات فى تنظيم الأنشطة الخلوية والفسيولوجية، ومن هذه البروتينات بعض الهورمونات مثل الإنسولين insulin الذى يُنظّم أيض السكريات. وفى البكتريا تُمثّل بروتينات وقف الابتناء repression proteins عناصر تحكم مهمه والتى توقف نسخ جزء من DNA مسئول عن إبتناء إنزيمات معينه فى حاله توافر النواتج النهائية التى تقوم هذه الإنزيمات بابتنائها.

٤ ـ الحماية بالمناعة المكتسبة : الأجسام المضادة antibodies هى بروتينات على درجة كبيره من التخصص لها القدرة على التعرف والإتحاد بالمواد الغريبة مثل الفيروسات والبكتريا والخلايا من الكائنات الأخرى.

٥ ـ الإنقباض والحركة: البروتينات هى العناصر الأساسية فى العضلات. فيرتبط بإنقباض

العضلات حركة إنزلاقية لنوعين من البروتينات الليفية هما اكتين actin وميوسين myosin. والحركات المتناسقة الأخرى التى تشمل حركة الكروموسومات فى الإنقسام الميتوزى وحركة البكتريا بواسطة الأسواط هى على المستوى الميكروسكوبى حركات إنقباضية لمجموعه من البروتينات.

٦ الدعامة الميكانية: عدد كبير من البروتينات تؤدى وظيفة دعامية حيث تُعطى للتركيبات البيولوجية القوة والحماية. فمقاومة الشد الكبيرة فى الجلد والعظام ترجع إلى وجود بروتين ليفى هو كولاجين collagen.

٧ ـ توليد وإرسال النبضات العصبية: إن استجابة الخلايا العصبية لأحد المستحثات يتم بوساطة مستقبلات بروتينية protein receptors. مثال ذلك بروتين الرودبسن rho-dopsin هو المستقبل الضوئى فى الخلايا العصوية rod cell. والمستقبلات الجزيئية والتى يمكن أن تُستحث بواسطة جزيئات صغيرة مثل أسيتايل كولين هى بروتينات مسئولة عن إرسال النبضات العصبية عند مناطق إتصال الخلايا العصبية.

٨ ـ وظائف أخرى: هناك عدد كبير من البروتينات تكون وظيفتها محصورة على نوع معين من الكائنات أو أن وظيفتها لم تحدد على وجه الدقة. فتحتوى بلازما بعض الأسماك التى تعيش فى مياه القطب على بروتينات مضاده للتجمد antifreez proteins التى تمنع تجمد دم هذه الأسماك عند درجات الحرارة المنخفضة. مونيللين وهو بروتين يوجد فى بعض النباتات الأفريقية وله مذاق حلو لم تعرف وظيفته بعد.

الأحماض الأمينية هى الوحدات البنائية للبروتينات

تُبنى البروتينات من الأحماض الأمينية، فعند غليان البروتينات مع الأحماض أو القواعد القوية فإن الوحدات البنائية لهذه البروتينات وهى الأحماض الأمينية تنفرد نتيجة لتحررها من الإرتباط التساهمى الذى يربط بينهم فى البروتين. وكل الأحماض الأمينية التى وجدت فى البروتينات هى جزيئات بسيطة نسبيا ولها تركيب عام مشترك. فالحمض الأمينى يحتوى على مجموعة أمينو ومجموعة كربوكسيل وذره هيدروجين ومجموعة

كيميائية -R ترتبط جميعها بذره كربون التى تُعرف بذره الكربون الفا (α) (شكل ٦ ـ ١). والمجموعة -R والتى تختلف من حمض أمينى لآخر يُشار إليها بالسلسلة الطرفية side chain (أو المجموعة الطرفية).

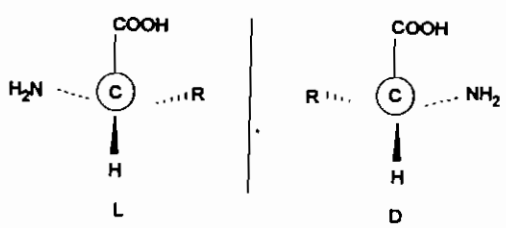
الصورة الأيونية ثنائية القطب　　الصورة غير المتأينة للحمض الأمينى

شكل ٦ ـ ١

تركيب الصورة غير الأيونية والصورة الأيونية ثنائية القطب للأحماض الأمينية

الأحماض الأمينية فى المحاليل المتعادلة توجد فى صورة أيونات ثنائية القطب dipolar وليس فى صورة جزيئات غير متأينه (شكل ٦ ـ ١). وفى الحقيقة فإن حالة التأين للأحماض الأمينية تعتمد على الرقم الهيدروجينى (pH) للوسط الذى توجد فيه.

ذره الكربون ألفا فى كل الأحماض الأمينية التى تدخل فى تركيب البروتينات ماعدا الحمض الأمينى جليسين هى ذره كيراليه أو غير متماثلة نتيجة لإرتباطها بأربع مجموعات كيميائية مختلفة، ولذلك تبدى الأحماض الأمينية نشاطا ضوئيا. فيوجد لكل حمض أمينى متشكّلان ضوئيان يطلق عليهما المتشكّل L والمتشكلّ D (شكل ٦ـ٢)، إلا أن كل الأحماض الأمينية المكوّنة للبروتينات هى متشكّلات L، هذا بالمقارنة بالسُكريات الأحادية الموجودة فى الأنظمة الحية التى توجد فى الهيئة الفراغية D .



شكل ٦ ـ ٢

الهيئة الفراغية للمتشكّلان L و D فى الأحماض الأمينية

الأحماض الأمينية يمكن تقسيمها إلى أربع مجموعات بناء على الخواص القطبية للمجموعه الطرفية (R)

عشرون نوعاً من السلاسل الطرفية R التى تختلف فى الحجم والشكل والشحنة والقدرة على تكوين الروابط الهيدروجينية والنشاط الكيميائى، توجد فى الأحماض الأمينية العشرين التى تدخل فى بناء البروتينات. ومنْ الثابت أن البروتينات فى كل أنواع الكائنات الحية من البكتريا إلى الإنسان تتكون من عشرين نوعاً من الأحماض الأمينية التى تختلف فى طبيعية المجموعة الطرفية (جدول ٦ ـ ١). والإختلاف فى تركيب البروتينات والمدى الواسع للوظائف التى تتم بواسطة البروتينات يرجع إلى التنوُّع والتكرار والتتابع المميز للأحماض الأمينية فى البروتينات. وسوف يتضح فيما بعد كيف أن التتابع المميز والتكرار للأحماض الأمينية فى البروتينات يحدد بناؤها المجسم ثلاثى الأبعاد وبالتالى يحدد الوظيفة البيولوجيةللبروتينات.

يمكن تصنيف الأحماض الأمينية الداخلة فى بناء البروتينات إلى أربع مجموعات بناء على الخواص القطبية للمجموعات R الطرفية، فالمجموعات الطرفية فى الأحماض الأمينية تختلف فى قطبيتها فى مدى واسع فى المحاليل المتعادلة من مجموعات طرفية غير قطبية كلية (كارهه للماء) إلى مجموعات طرفية على درجة كبير من القطبية (محبة للماء) وهذه المجموعات الأربعة هى:

١ ـ الأحماض الأمينية غير القطبية : يشمل هذا القسم على ثمانية أحماض أمينية تحتوى على مجموعات طرفية أليفاتية أو عطرية (شكل ٦ ـ ٣). خمسة أحماض منها تحتوى على مجموعات طرفية اليفاتية وهى ألآنين وڤالين وليوسين وأيسوليوسين وبرولين. مع ذلك فإن برولين يختلف عن الأحماض الأمينية الأخرى فى أنه يحتوى على مجموعة إيمينو imino group وليس مجموعة أمينو amino group وفى الحقيقة فإن برولين حمض إيمينو وليس حمض أمينى. يحتوى هذا القسم أيضا على مِثْيونين الذى يحتوى على كبريت فى المجموعة R واثنين من الأحماض الأمينية العطرية هما فينايل الآنين وتربتوفان.

جدول ٦ ـ ١

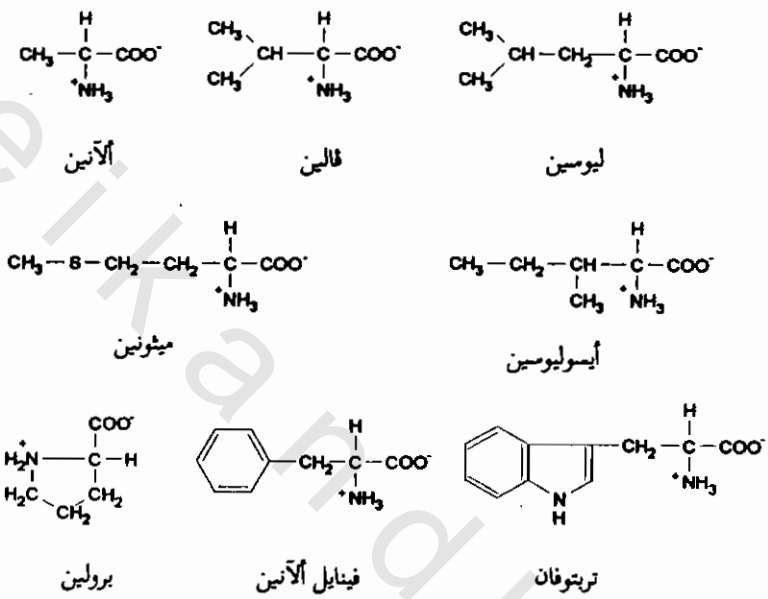
الأحماض الأمينية التى تدخل فى بناء البروتينات ورموزها المختصرة

الحمض الأمينى		الرمز المختصر
ألآنين	Alanine	Ala
أرجنين	Arginine	Arg
اسبارجين	Asparagine	Asn
حمض أسبارتيك	Aspartic acid	Asp
سستئين	Cysteine	Cys
جلوتامين	Glutamine	Gln
حمض جلوتاميك	Glutamic acid	Glu
جليسين	Glycine	Gly
هستيدين	Histidine	His
أيسوليوسين	Isoleucine	Ile
ليوسين	Leucine	Leu
لايسين	Lysine	Lys
مثيونين	Methionine	Met
فينايل الآنين	Phenlalanine	Phe
برولين	Proline	Pro
سيرين	Serine	Ser
ثريونين	Threonine	Thr
تريتوفان	Trptophan	Trp
تيروزين	Tyrosine	Tyr
فالين	Valline	Val

٢ ـ الأحماض الأمينية القطبية : يشمل هذا القسم على سبعة أحماض أمينية تحتوى على مجموعات R قطبية ولكن عديمة الشحنة (شكل ٦ ـ ٤). وترجع قطبية

obeikandl.com

هذه الأحماض إلى قطبية مجموعة الهيدروكسيل (سيرين وثريونين وتيروزين)، أو مجموعة أميد (أسباراجين وجلوتامين) أو مجموعة ثيول (سستئين) فى المجموعات الطرفية لهذه الأحماض. يوضع أيضا الحمض الأمينى جليسين فى هذه المجموعة.



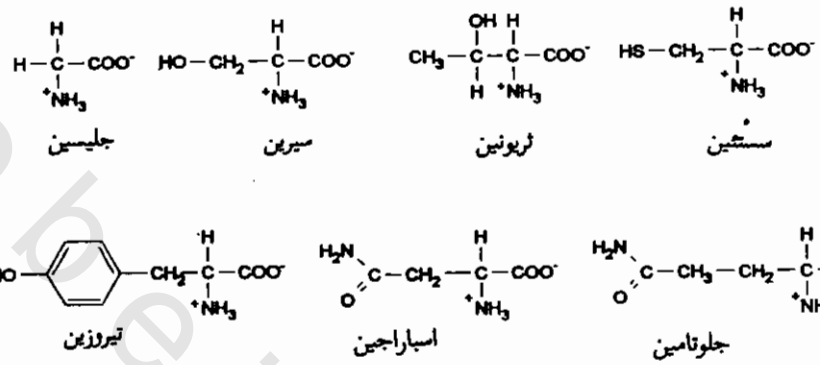
شكل ٦ ـ ٣

الأحماض الأمينية غير القطبيه والتى تحتوى على مجموعات R اليفاتيه أو عطريه

وسوف نناقش فيما بعد الدور الخاص الذى يلعبه الحمض الأمينى سستئين فى بعض البروتينات وذلك بتكوينه للروابط ثنائية الكبريتيد disulfide bond.

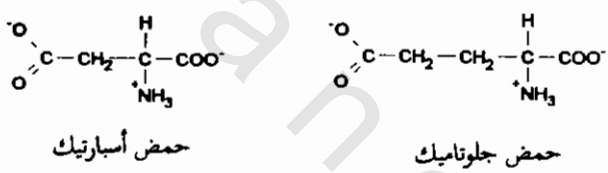
٣ ـ الأحماض الأمينية الحامضية : تشمل إثنان من الأحماض الأمينية كلاهما يحتوى على مجموعة طرفية تحمل شحنه سالبه (مجموعة كربوكسيل متأينة) عند الرقم الهيدروجينى المتعادل هما حمض أسبارتيك وحمض جلوتاميك (شكل ٦ ـ ٥).

٤ ـ الأحماض الأمينية القاعدية : المجموعة الطرفية فى هذه الأحماض الأمينية تحمل



شكل ٦ ـ ٤

الأحماض الأمينية القطبية (المجموعة R قطبية ولكن لاتحمل شحنه)



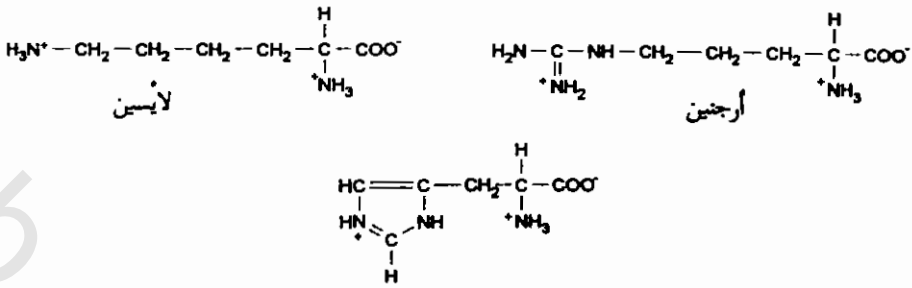
شكل ٦ ـ ٥

الأحماض الأمينية الحامضية أسبارتيك وجلوتاميك كلاهما يحتوى على مجموعة كربوكسيل ثانية فى المجموعة الطرفيه

شحنة موجبة عند الرقم الهيدروجينى المتعادل، ويشمل هذا القسم ثلاثة أحماض أمينية (شكل ٦ ـ ٦) هم لايسين الذى يحمل مجموعه أمينو ثانيه فى السلسلة الطرفية، وأرجنين الذى يحتوى على مجموعه جوانيدو guanidium، والهستيدين الذى يحتوى، على مجموعة إيميدازول imidazole ضعيفة التأين.

بعض الأحماض الأمينية الأخرى توجد فى أنواع محدوده من البروتينات

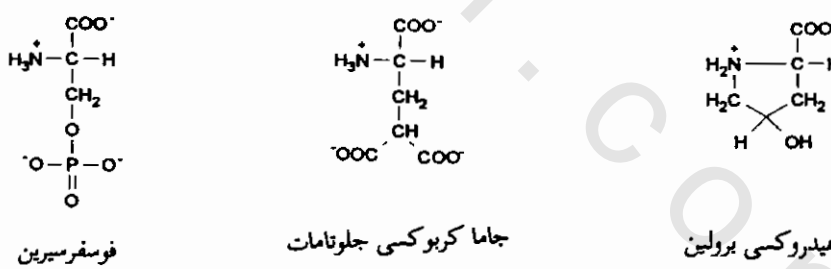
بعض البروتينات تحتوى على بعض أحماض أمينية خاصة والتى تتكون نتيجة لتحوير الأحماض الأمينية الشائعة بعد إدماجها فى السلسلة الببتيدية للبروتين. فمثلا يحتوى



شكل ٦ ـ ٦

الأحماض الامينية لايسين وهستيدين تحتوى على سلسلة جانبيه قاعديه

بروتين كولاجين على هيدروكسى برولين وهو مشتق هيدروكسيلى للحمض الأمينى برولين (شكل ٦ ـ ٧)، ويظهر أن مجموعة الهيدروكسل المضافة تقوم بتثبيت الياف الكولاجين. وتظهر الأهمية البيولوجية لهذا التحوير للحمض الأمينى برولين فى مرض الاسقربوط scurvy الذى ينتج عن عدم إدخال كمية كافية من مجموعات الهيدروكسيل فى الكولاجين. ومن الأحماض الأمينية الخاصة الأخرى هو حمض جاما



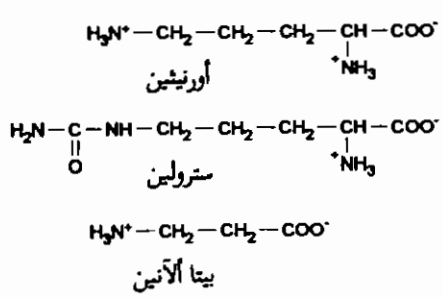
شكل ٦ ـ ٧

بعض الأحماض الأمينيه المحوّره الموجوده فى بعض البروتينات وهى هيدروكسى برولين، حمض جاماكاربوكسى جلوتامات وفوسفو سيرين. تضاف المجموعات بعد تكوين السلسلة الببتيدية فى البروتين

كربوكسى جلوتامات الذى يوجد فى بروتين بروثرومبين prothrombin وهو المسئول عن تكوين جلطة الدم، والخلل فى عملية إدماج مجموعة الكربوكسيل فى حمض جلوتاميك قد يؤدى إلى مرض النزف الدموى hemorrhage. وأكثر الأحماض الأمينية تحويراً فى البروتينات هو الحمض الأمينى سيرين، حيث يعتمد عمل بعض الهورمونات على إضافة أو إزالة مجموعة فوسفات لبعض جزيئات السيرين فى العديد من البروتينات.

الكائنات الحية تحتوى أيضا على أحماض أمينية غير بروتينيه

بالإضافة إلى الأحماض الأمينيه التى تُستخدم كوحدات بنائية للبروتينات، فإنه قد أمكن التعرف على اكثر من مائتى حمض أمينى أخرى فى الأنظمة الحية معظمها توجد فى النباتات. هذه الأحماض الأمينية قد توجد فى صورة حرة أو فى صورة مرتبطة ولكنها لاتدخل فى تركيب البروتينات. بعض هذه الأحماض الأمينية قد تكون مركبات وسيطة فى عمليات الأيض مثل أورنيثين وسترولين (شكل ٦ ـ ٨) وهما من المركبات الوسيطة فى دوره اليوريا وفى البناء الحيوى للأرجنين. والبعض الآخر قد يدخل فى بناء الجزيئات البيولوجية غير البروتينية مثل بيتا ـ ألآنين الذى يدخل فى تركيب حمض البانتوثينيك pantothenic acid والمرافق الأنزيمى A (Coenzyme A) والبروتين الحامل للآسايل acyl carrier protein. تحتوى النباتات الراقية على عدد كبير من الأحماض الأمينية، إلا أن الدور الذى تقوم به معظم هذه الأحماض الأمينية لم يعرف بعد.

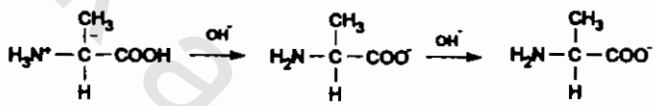


شكل ٦ ـ ٨

بعض الأحماض الأمينية غير البروتينية

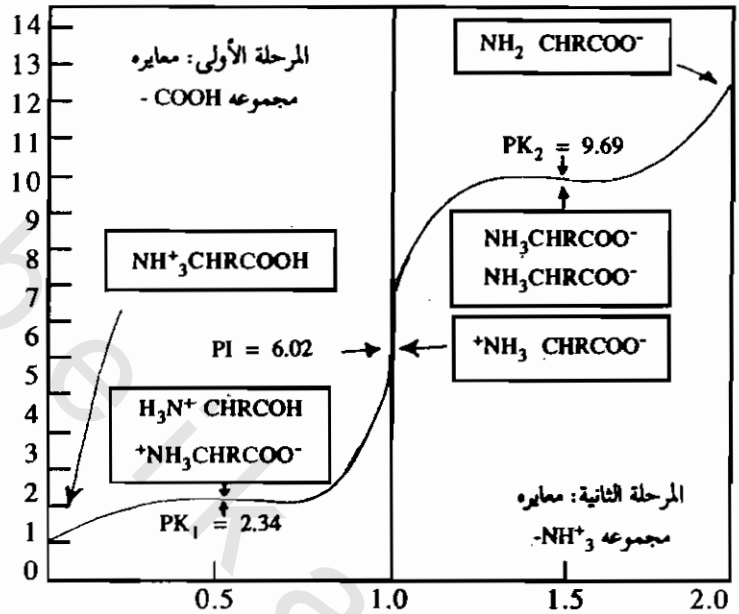
الأحماض الأمينية تختلف فى خواصها الحامضية ـ القاعدية

تتأين الأحماض الأمينية فى المحاليل المائية حيث تعمل كأحماض أو قواعد، ومعرفة الخواص الحامضية ـ القاعدية للأحماض الأمينية يمثّل أهمية كبيره فى تفهم عدد كبير من خواص البروتينات. بالإضافة إلى ذلك فإن فصل الأحماض الأمينية من البروتينات والتعرف عليها يعتمد أيضا على السلوك الحامضى ـ القاعدى المميز للأحماض الأمينية. فتحتوى الأحماض الأمينية ألآنين مثلا ـ على مجموعتين أيونيتين: مجموعة الكربوكسيل ـ الفا، ومجموعة الأمين ـ الفا. وفى الصورة البروتونية الكاملة يتم تنقيط هاتين المجموعتين كالآتى:



ويوضح شكل (٦ ـ ٩) منحنى المعايره للحمض الأمينى ألآنين والذى يظهر مرحلتين مميزتين كل منهما يمائل إزاله أحد البروتونان. كل مرحلة تماثل فى شكلها منحنى المعايره للأحماض أحادية البروتون مثل حمض الأسيتيك (شكل صفحة ٧٨)، وبذلك يمكن تحليله بنفس الطريقة. فتكون قيمة الـ pK لمجموعة الكربوكسيل ألفا فى حدود ٢,٣٤، بينما الـ pK لمجموعة الأمينو الفا فى حدود ٩,٦٩. ويعطى المنحنى أيضا علاقة بين الرقم الهيدروجينى والشحنه الكهربية على الجزئ، فعند رقم هيدروجينى ٦,٠٢ وهى نقطة الإنعطاف بين المنحنيين حيث يوجد الجزئ فى الصورة الأيونية الثنائية، لايكون للألآنين شحنه كهربائية نهائية أى يكون متعادلاً كهربائيا عند هذا الرقم الهيدروجينى ولن يتحرك فى مجال كهربى. هذه النقطة تُعرف بنقطة التعادل الكهربى isoelectric point (pI) والتى يمكن حسابها من المعادلة التالية:

$$pI = \frac{1}{2}\ (pk_1 + pK_2)$$



شكل ٦ ـ ٩

منحنى المعايرة لـ ١, مولر ألآنين موضحا فيه أنواع الأيونات السائدة عند قيم الرقم الهيدروجينى المختلفة

وهى فى حالة ألآنين

$$pI = \frac{1}{2}(2.34 + 9.69) = 6.02$$

وعند رقم هيدروجينى أعلى من نقطة التعادل الكهربى فإن ألآنين يحمل شحنة نهائية سالبة وسوف يتحرك نحو القطب الموجب عند وضعه فى مجال كهربى، بينما عند رقم هيدروجينى أقل من نقطة التعادل الكهربى فسوف يحمل ألآنين شحنة موجبة وسيتحرك إلى القطب السالب.

الأحماض الأمينية التى تحتوى على مجموعة كربوكسيل ألفا ومجموعة أمينو ألفا ومجموعة طرفيه غير متأنيه يكون لها منحنى معايره مماثل لمنحنى المعايره للألآنين. وهذه

الأحماض الأمينية (جدول ٦ ـ ٢) تكون مميزه باحتوائها على pK_1 و pK_2 متقاربه ولكن ليست متساوية. أما الأحماض الأمينية التى تحتوى على مجموعة طرفية متأينه يكون لها منحنى معايره يشتمل على ثلاثة خطوات تأين وبذلك يكون لها ثلاثة قيم لـ pK ، إحداها للمجموعة المتأينة فى السلسلة الطرفية (جدول ٦ ـ٢).

جدول ٦ - ٢

قيم pK للمجموعات المتأنية فى الأحماض الأمينية

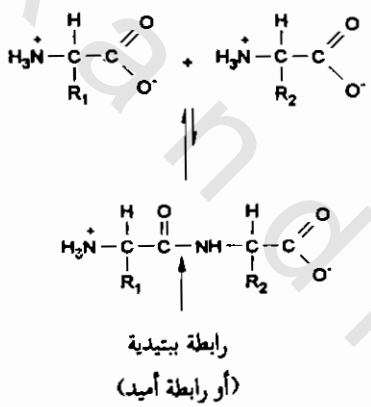
الحمض الأمينى	pK_1 $\alpha - COOH$	pK_2 $\alpha - N^+H_3$	pK_R
جليسين	٢,٣٤	٩,٦٠	
ألآنين	٢,٣٤	٩,٦٩	
ليوسين	٢,٣٦	٩,٦٠	
سيرين	٢,٢١	٩,١٥	
ثريونين	٢,٦٣	١٠,٤٣	
جلوتامين	٢,١٧	٩,١٣	
حمض أسبارتيك	٢,٠٩	٩,٨٢	٣,٨٦
حمض جلوتاميك	٢,١٩	٩,٦٧	٤,٢٥
هستيدين	١,٨٢	٩,١٧	٦,٠٠
سستئين	١,٧١	١٠,٧٨	٨,٣٣
تيروزين	٢,٢٠	٩,١١	١٠,٠٧
لايسين	٢,١٨	٨,٩٥	١٠,٥٣
أرجنين	٢,١٧	٩,٠٤	١٢,٤٨

هذه المعلومات بالإضافة إلى أهميتها فى تحديد خواص البروتينات، فإنها أيضا ذات أهميه عمليه حيث يمكن فصل الأحماض الأمينية المختلفة عن بعضها بناء على إتجاه ومعدل هجرتها عند وضعها فى مجال كهربى عند رقم هيدروجينى معلوم، وذلك لإختلاف الأحماض الأمينية فى قيم الـ pK وكذلك نقطة التعادل الكهربى.

obeikandl.com

الأحماض الأمينية ترتبط ببعضها بواسطة الروابط الببتيديه لتكون سلاسل عديد الببتيد

تتألف البروتينات من الأحماض الأمينية التى ترتبط ببعضها بواسطة الروابط الببتيدية. ويتم تكوين الرابطة الببتيديه فى البروتينات عن طريق ارتباط مجموعة الكربوكسيل ألفا لحامض أمينى مع مجموعة الأمينو الفا لحامض أمينى آخر (يطلق أيضا على الرابطة الببتيدية برابطة الأميد). ويوضح شكل (٦ـ١٠) تكوين ببتيد ثنائى من حامضين أمينيين بإزالة جزئ ماء. الإتزان فى هذا التفاعل يكون فى إتجاه تحلل الببتيد وليس فى إتجاه تكوينه، لذلك فإن تكوين الروابط الببتيديه يحتاج إلى إضافة طاقة حرة، بينما تحلل الرابطة الببتيديه هو المفضل من وجهه نظر الحركة الحرارية لانه تفاعل منتج للطاقة.



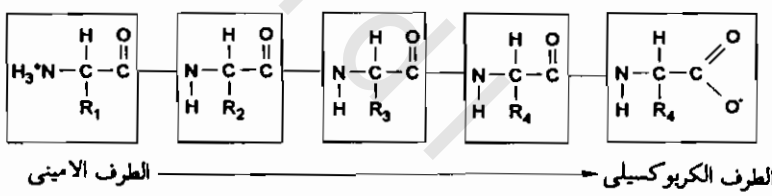
شكل ٦ ـ ١٠

تكوين الرابطة الببتيدية (Peptide bond)

بناء على عدد الأحماض الأمينية المرتبطة تتكون سلاسل ببتيديه متباينه فى تعقيدها. فالببتيدات الثلاثية تتألف من إرتباط ثلاثة أحماض أمينية، والببتيدات الرباعية تتكون من إرتباط أربعة أحماض أمينية. وعموما فإن السلاسل القصيرة التى تحتوى حتى عشرين حمضاً أمينياً تُدعى بالببتيدات ، أما التى تحتوى على أكثر من ذلك فتعرف بعديد الببتيد polypeptide. والبروتين عباره عن ببتيد عديد وجزيئات البروتينات الصغيرة قد تحتوى على سلسلة من خمسين إلى مائة حمض أمينى، أما البروتينات الكبيره قد تحتوى على

٣٠٠ حمضاً أمينياً أو أكثر. من أكبر سلاسل عديد الببتيد المعروفة هى تلك الموجودة فى بروتين العضلات ميوسين myosin حيث تحتوى على حوال ١٧٥٠ حمضاً أمينياً.

يوضح شكل (٦ ـ ١١) جزءاً من سلسلة ببتيديه والتى تظهر كنظام خطى غير متفرع. يكون عادة لسلسلة عديد الببتيد إتجاه معين وذلك لأنه توجد للوحدات البنائية المكوِّنه لهذه السلسلة نهايتين مختلفتين وهما مجموعة الأمينو ـ ألفا ومجموعة الكربوكسيل ـ الفا. وعادة ما يطلق على هذين الطرفين بالطرف الأمينى amino - terminal والطرف الكربوكسيلى carboxy - terminal على التوالى. ولقد اتفق على أن يتم ترقيم تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد بداية من الطرف الأمينى الذى يأخذ رقم واحد. ففى الببتيد الثلاثى الآنين ـ جليسين ـ تربتوفان فإن الآنين هو الطرف الأمينى ويأخذ الرقم واحد بينما تربتوفان هو الطرف الكربوكسيلى ويأخذ الرقم ثلاثة. ومن الجدير بالذكر أن الببتيد الثلاثى: تربتوفان ـ جليسين ـ الآنين هو ببتيد ثلاثى آخر يختلف عن الببتيد الثلاثى المذكور أعلاه.



شكل ٦ ـ ١١

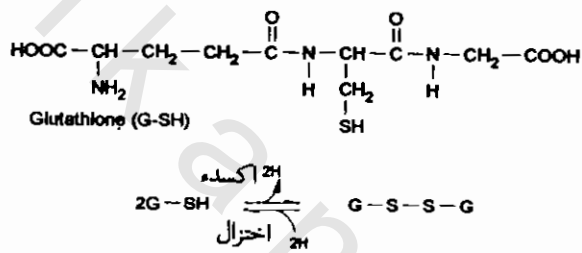
جزء من سلسلة عديد الببتيد ـ تبدأ السلسلة من النهاية المحتوية على مجموعة الأمينو الحره.

تحتوى سلسلة عديد الببتيد على أجزاء مكرره منتظمة يطلق عليها السلسلة الرئيسية وعلى جزء متغير يتكون من سلاسل طرفية مميزه (شكل ٦ ـ ١١)، ويطلق أحيانا على السلسلة الرئيسية بالعمود الفقرى لجزئ البروتين.

بعض الببتيدات لها نشاط بيولوجى مهم

بالإضافة إلى أن الببتيدات تتكون كناتج للتحلل الجزئى للبروتنيات فإن عدداً من الببتيدات

توجد فى صورة حره فى الأنظمة الحية حيث تقوم بوظائف بيولوجية هامة. فالببتيد الثلاثى جلوتاثيون glutathione الذى يتألف من ثلاثة أحماض أمينيه هى جلوتاميك وسستئين وجليسين (شكل ٦ ـ ١٢) ينتشر فى الأنظمة الحية، فيوجد فى الكبد والعضلات والخميره. يختلف تركيب هذا الببتيد عن الببتيدات الأخرى فى أن إرتباط حمض الجلوتاميك يتم عن طريق مجموعة الكربوكسيل جاما وليس مجموعة الكربوكسيل الفا. والوظيفة البيولوجية لهذا المركب ترجع إلى وجود مجموعة السلفهيدريل Sulfhydryl group (SH) التى تدخل فى تفاعلات اكسده واختزال.



شكل ٦ ـ ١٢

تركيب وتفاعلات الببتيد الثلاثى جلوتاثيون (يُعطى الرمز المختصر G - SH)

كذلك فإن عدداً من الهورمونات هى ببتيدات أو عديد ببتيد، والهورمونات هى رسائل كيميائية تفرز بواسطة خلايا خاصة أو من الغدد الصماء مثل البنكرياس والغدة النخامية وقشرة الكظر وتنقل بواسطة الدم وذلك لاستحثاث نشاط خاص فى الأنسجة أو الأعضاء الأخرى. فهورمون اوكسيتوسين oxytocin (يحتوى على تسعه أحماض أمينية) يفرز من الجزء الخلفى للغده النخاميه ويستحث انقباضات الرحم. فاسوبر يسين vasopressin هورمون آخر يحتوى أيضا على تسعة أحماض أمينية ويوجد فى الذكور والإناث ويحدث زيادة فى ضغط الدم عن طريق تقلصات الأوعيه الدمويه السطحيه، لكن مهمته الرئيسية هو الحد من إدرار البول ولذلك يُشار إليه أحيانا بالهورمون الضابط للبول. بعض المضادات الحيويه هى أيضا ببتيدات والتى تبنى بواسطة بعض الكائنات الدقيقة ولكنها سامه للبعض الآخر.

البروتينات تتألف من سلسلة واحده أو أكثر من عديد الببتيد وتختلف فى أوزانها الجزيئية

عدد كبير من البروتينات مثل ميوجلوبين myoglobin تحتوى على سلسلة عديد ببتيد واحدة. والبعض الآخر يتألف من سلسلتين أو أكثر والتى قد تكون متماثلة أو مختلفة، فيحتوى الهيموجلوبين hemoglobin مثلا على سلسلتين من نوع واحد وعلى سلسلتين أخريين من نوع مختلف وترتبط سلاسل عديد الببتيد الأربعة فى الهيموجلوبين بواسطة الروابط غير التساهميه. أما فى الإنسولين insulin الذى يتألف من سلسلتين من عديد الببتيد ترتبط السلسلتين برابطتين من الروابط ثنائية الكبريتيد.

يتباين الوزن الجزيئى للبروتينات تبايناً كبيراً، فالسيتوكروم c وهو أحد البروتينات الصغيرة يتألف من سلسلة ببتيديه واحده تحتوى على ١٠٤ حمضاً أمينياً ويبلغ وزنه الجزيئى ١٢,٠٠٠ . من ناحية أخرى فقد يصل الوزرن الجزيئى لبعض البروتينات الكبيره إلى مليون أو اكثر. ويوضح جدول (٦ ـ ٣) الوزن الجزيئى لبعض البروتينات.

جدول ٦ ـ ٣

البيانات الجزيئية لبعض البروتينات

الوزن الجزيئى	عدد السلاسل	عدد وحدات الأحماض الأمينية	الوزن الجزيئى
سيتوكروم c	١	١٠٤	١٢,٠٠٠
ريبونيوكلييز (بنكرياس البقر)	١	١٢٤	١٢,٦٤٠
ميوجلوبين (قلب الحصان)	١	١٥٣	١٦,٨٩٠
أنسولين	٢	٥١	١١,٤٦٦
كيموتربسين (بنكرياس البقر)	٣	٢٤١	٢٢,٦٠٠
هيموجلوبين (الإنسان)	٤	٥٧٤	٦٤,٥٠٠
جاماجلوبيولين	٤	١٢٥٠	١٤٩,٩٠٠
جلوتامات ديهيدروجنيز (كبد البقر)	٤٠	٨٣٠٠	١,٠٠٠,٠٠٠

تحتوى البروتينات على نسب مميزه من الأحماض الأمينية المختلفة

تحتوى البروتينات على نسب مختلفة من الأحماض الأمينية، فعندما تتميأ البروتينات بالأحماض والقواعد تنتج مخلوطاً من الأحماض الأمينية ألفا المختلفة وهى الوحدات البنائية للبروتين، وكل نوع من البروتينات ينتج نسبا مميزه من مخلوط الأحماض الأمينية المختلفة. ويوضح جدول (٦ ـ ٤) عدد الأحماض الأمينية الناتجة من التميؤ الكامل

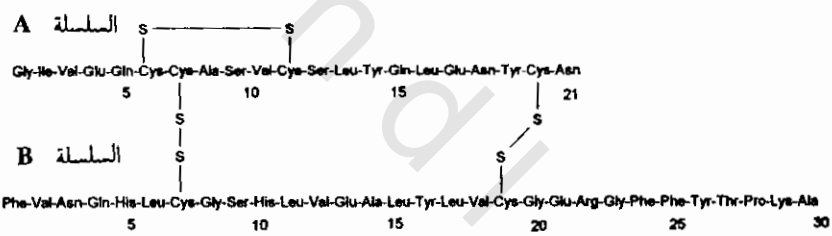
جدول ٦ ـ ٤
محتوى سيتوكروم c وريبونيوكلييز من الأحماض الامينية

الوزن الجزيئى	سيتوكروم c (الإنسان)	ريبونيوكليز (البقر)
ألآنين	٦	١٢
أرجنين	٢	٤
اسباراجين	٥	١٠
حمض اسبارتيك	٣	٥
سستئين	٢	٨
جلوتامين	٢	٧
حمض جلوتاميك	٨	٥
جليسين	١٣	٣
هستيدين	٣	٤
أيسوليوسين	٨	٣
ليوسين	٦	٢
لايسين	١٨	١٠
مثيونين	٣	٤
فينايل ألآنين	٣	٣
برولين	٤	٤
سيرين	٢	١٥
ثريونين	٧	١٠
تربتوفان	١	—
تيروزين	٥	٦
فالين	٣	٩
المجموع الكلى	١٠٤	١٢٤

لبروتين سيتوكروم c وبروتين ريبونيوكلييز. ومن الملاحظ أنه بأختلاف نوعى البروتينات فى الوظيفة فإنهما يختلفان أيضا فى العدد النسبى لكل نوع من الأحماض الأمينية. ونادراً ما توجد الأحماض الأمينية العشرين بكميات متساوية فى البروتينات، فبعض الأحماض الأمينية قد تتكرر مرة واحدة فى الجزئ والبعض الآخر قد يوجد بأعداد كبيرة. بالإضافة إلى ذلك فإن بعض البروتينات قد لايدخل فى تركيبها واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية العشرين.

البروتينات تحتوى على تتابع مميز من الأحماض الأمينية

تمكن فريدريك سانجر F.Sanger عام ١٩٥٣ من التعرُّف على تتابع الأحماض الأمينية لعديد الببتيد المسمى أنسولين، وكما هو معروف فإن الإنسولين عبارة عن هورمون (شكل ٦ ـ ١٣). ويعتبر هذا الإنجاز علامة فاصلة وواضحة فى الكيمياء



شكل ٦ ـ ١٣

تتابع الأحماض الأمينية فى أنسولين البقر

الحيوية لأنه أظهر ولأول مرة بأن لجزئ البروتين تتابع دقيق من الأحماض الأمينية. ولقد حفز هذا الإنجاز علماء آخرين لدراسة تتابع الأحماض الأمينية لعدد آخر من البروتينات، وبالفعل أصبح تتابع الأحماض الأمينية لمئات البروتينات معروفاً فى الوقت الحالى، حيث إتضح أن لكل بروتين من هذه البروتينات تتابعاً دقيقا ومتميزاً من الأحماض الأمينية. كما أوضحت الدراسات التى أجريت فى نهاية الخمسينات وبداية الستينات بأن تتابع الأحماض الأمينية فى بروتين ما يتحدد وراثيا بواسطة الجينات، حيث عرف فيما بعد أن تتابع النيوكلوتيدات الموجودة فى DNA هى التى تقرر التتابع المتتام للنيوكليوتيدات فى

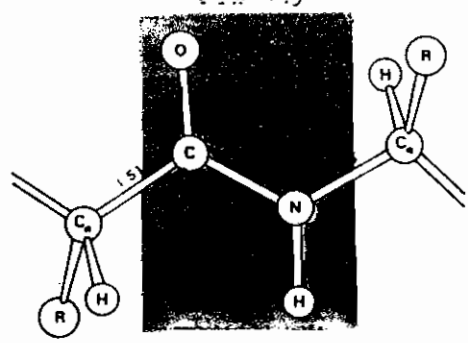
RNA والتى بدورها تقرر تتابع الأحماض الأمينية فى جزئ البروتين. وترجع أهمية معرفة تتابع الأحماض الأمينية فى البروتينات إلى (١) توضيح الأساس الجزيئى لفعالية البروتين الحيوية (٢) معرفة تتابع الأحماض الأمينية والبناء الفراغى ثلاثى الأبعاد للعديد من البروتينات يساعد فى الكشف عن القواعد الأساسية التى تتحكم فى إنطواء سلاسل عديد الببتيد، ومن ثم يمكن استنباط البناء الفراغى ثلاثى الأبعاد للبروتينات من بيانات تتابع الأحماض الأمينية (٣) والتغير فى تتابع الأحماض الأمينية قد يؤدى إلى حدوث قصور فى الوظيفة البيولوجية للبروتين أو مرض معين، فمثلا مرضى أنيميا الخلايا المنجليه sickle cell anemia ينتج عن تغيير تتابع حمض أمينى واحد فى بروتين الهيموجلوبين. وبناءاً على ذلك فإن معرفة تتابع الأحماض الأمينية يمثل أحد الأسس التى يبنى عليها علم الأمراض الجزيئية molecular diseases .

الهيئة البنائية لسلاسل عديد الببتيد

رأينا فى الجزء السابق كيف تُشكّل الروابط الببتيدية البناء التساهمى أو الأولى للبروتين، مع ذلك فإن الفهم الكامل لوظائف البروتينات يتطلب معرفة ترتيب سلاسل عديد الببتيد فى أبعاد ثلاثة. فتتميز البروتينات الطبيعية بأن لها بناءاً فراغيا فى ثلاثة أبعاد، فالشكل العشوائى غير المنتظم لسلسة عديد الببتيد يؤدى إلى فقدان البروتين لفعاليته البيولوجية، وهنالك علاقة وثيقة جداً بين الهيئة البنائية ووظيفة البروتين. ويُقصد بالهيئة البنائية con-formation فى هذا المجال ـ ترتيب الذرات فى الفراغ فى ثلاثة أبعاد.

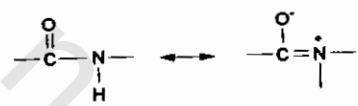
أوضحت الدراسات التى قام بها العالمان لينس بولنج Linus Pauling وروبرت كورى Robert Corey باستخدام الأشعة السينية على الببتيدات الثنائية والثلاثية أن الوحدة الببتيدية تكون متماسكة ومستوية، كما أن ذره الهيدروجين على النتروجين توجد دائما فى الوضع المخالف trans بالنسبة للأكسجين (شكل ٦ ـ ١٤). وجد أيضا أن حريه الدوران حول الرابطة بين ذرة الكربون الكربونيلية وذره النتروجين تكون مقيده لاحتواء هذه الرابطة على بعض خصائص الرابطة المزدوجة (شكل ٦ ـ ١٥). بالمقابل فإن

الرابطة الببتيدية



شكل ٦ ـ ١٤

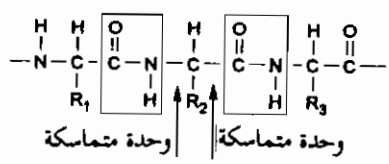
المجموعة الببتيدية هى وحدة متماسكة مستوية. طول الروابط موضحة بالشكل بوحدات الانجستروم (واحد أنجستروم = $١٠^{-١٠}$ متر).



شكل ٦ ـ ١٥

مجموعة الببتيد تكون مستويه لأن الرابطة بين ذرة الكربون وذرة النتروجين تحتوى على بعض خصائص الرابطة المزدوجة

الرابطة تكون فردية بين ذرة الكربون ألفا وذرة الكربون الكربونيلية، كذلك تكون الرابطة فردية بين ذرة الكربون الفا وذره النتروجين. ويترتب على ذلك وجود درجة كبيرة من حرية الدوارن حول هاتين الرابطتين فى كلا طرفى الوحدة الببتيدية (شكل ٦ ـ ١٦).



حرية الدوران تكون حول هاتين الرابطتين

شكل ٦ ـ ١٦

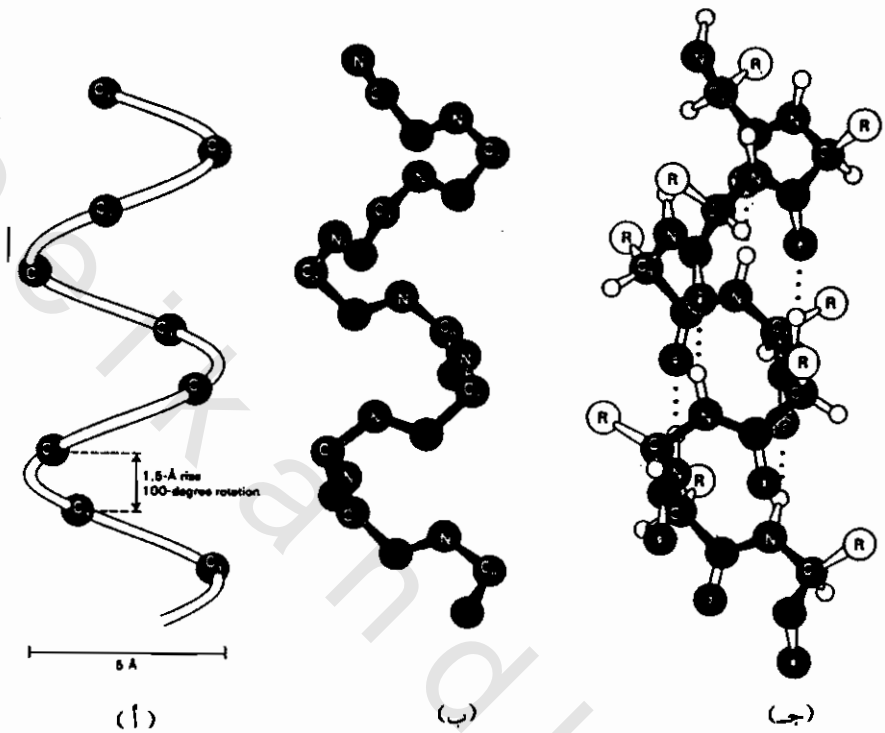
توجد حرية دوران كبيرة حول الروابط التى تربط المجاميع الببتيدية بذرة الكربون الفا

التراكيب الدورية المنتظمة : الشكل الحلزونى ـ ألفا والصفيحة المنطوية ـ بيتا

أوضح بولنج وكورى عام ١٩٥١ باستخدام النماذج الجزيئية أن سلسلة عديد الببتيد يمكن أن توجد فى تركيب منتظم الذى يأخذ الشكل الحلزونى الفا α-helix أو الصفائح المنطوية ـ بيتا β-Pleated sheet. بعد ذلك بست سنوات أمكن إثبات أن الشكل الحلزونى الفا يوجد فى عدد كبير من البروتينات الطبيعية. والشكل الحلزونى ـ ألفا هو بناء شبه عصوى حيث تلتف السلسلة حول نفسها وتُمثِّل سلسلة عديد الببتيد الرئيسية (العمود الفقرى) الجزء الداخلى، بينما تمتد المجاميع الطرفية ـ R بعيداً عن محور الحلزون ويوجد هنالك ما معدَّله ٣,٦ حمض أمينى فى كل دورة للشكل الحلزونى ألفا (شكل ٦ ـ ١٧). وتقوم الروابط الهيدروجينية بين مجاميع NH و CO الموجودة فى السلسلة الرئيسية على إضفاء الإستقرار للشكل الحلزونى ـ الفا، حيث ترتبط CO فى كل حمض أمينى بواسطة رابطة هيدروجينية بالمجموعة NH للحامض الأمينى الذى ينفصل عنه بثلاثه وحدات حمض أمينى.

هنالك تباين كبير فى محتوى الشكل الحلزونى ـ ألفا للبروتينات التى لها تركيب ذو بعد ثلاثى معلوم. فمثلا يكون التركيب الرئيسى لبعض البروتينات مثل ميوجلوبين وهيموجلوبين من الشكل الحلزونى ـ ألفا، بالمقابل لا تحتوى بروتينات أخرى مثل إنزيم الهضم كيموتريبسين على الشكل الحلزونى ـ ألفا. وفى بعض الأحيان قد يلتف إثنين أو أكثر من الخيوط الحلزونية مكونه حلزون ـ ألفا مضاعف الذى يوجد فى بروتينات مثل كيراتين الفا وهو بروتين الشعر والصوف والاظافر، والكولاجين (شكل ٦ ـ ١٨) الذى يوجد فى الانسجة الضامة، والميوسين والتريومايوسين الموجودان فى العضلات.

فى نفس العام أى عام ١٩٥١ اكتشف نفس العالمان تركيب دورى آخر أُطلق عليه إسم الصفيحة المنطوية ـ بيتا (استعمل الإسم بيتا لأنه التركيب الثانى من ناحية الترتيب الذى اكتشفه العالمان، حيث كان الشكل الحلزونى ـ ألفا هو الأول فى الترتيب).



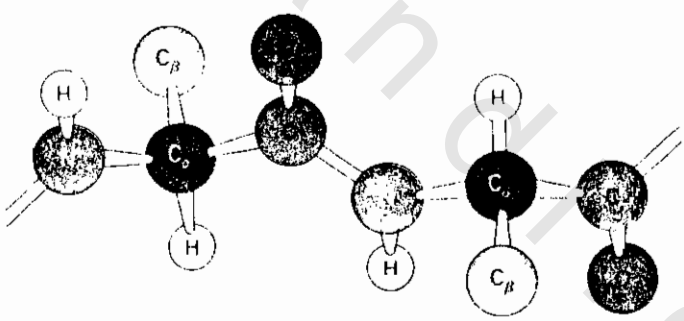
شكل ٦ ـ ١٧

نموذج للشكل الحلزونى ـ ألفا (أ) يبين ذره الكربون ـ الفا فى الخيط الحلزونى، (ب) يمثل العمود الفقرى للسلسلة الببتيدية المتكون من النتروجين (N) وذره الكربون الفا (Cα) وذره الكربون الكربونيلية (C). (جـ) الشكل الحلزونى الكامل ويلاحظ فيه الروابط الهيدروجينتية بين مجموعات NH و CO والتى تعمل على استقرار الشكل الحلزونى.

تختلف الصفيحة المنطوية بيتا كثيرا عن الشكل الحلزونى ـ ألفا فى أن سلسلة عديد الببتيد فى الأول تكون ممتده (شكل ٦ ـ ١٩) بينما تكون فى الثانى شكل حلزونى، فتكون المسافة بين محورى حمضين أمينين متجاورين ٣,٥ أنجستروم بالمقابل تكون هذه

شكل ٦ـ ١٨

كولاجين عباره عن حلزون ثلاثى يتألف من التفاف ثلاثة سلاسل من عديد الببتيد.



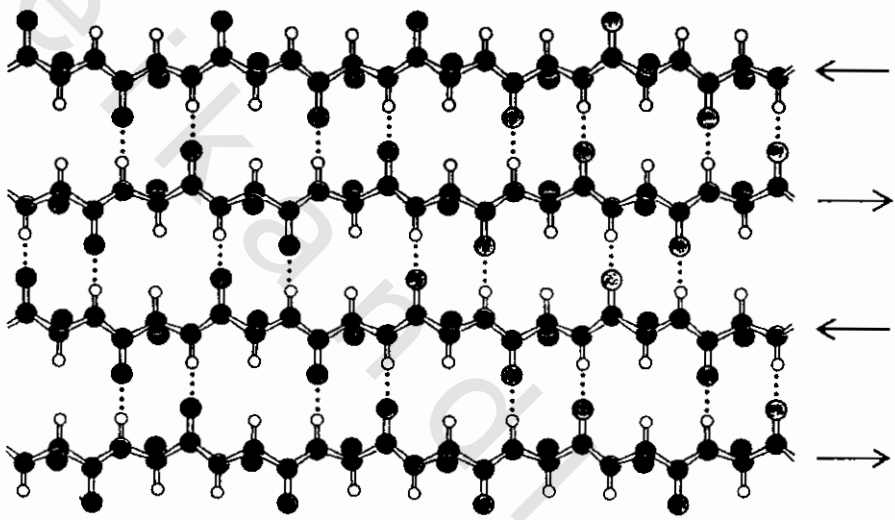
شكل ٦ ـ ١٩

تركيب ببتيد ثنائى فى الصفيحة المنطوية بيتا ـ تكون سلسلة عديد الببتيد ممتده بصورة شبه كاملة.

المسافة ١,٥ أنجستروم فى الشكل الحلزونى ـ ألفا. وهناك فرق أخر وهو أن إستقرار الصفيحة المنطوية ـ بيتا تتم بواسطة الروابط الهيدروجينية بين مجاميع NH و CO فى السلاسل الببتيديه المختلفة، بينما تكون هذه الروابط فى نفس السلسلة فى الشكل

obeikandl.com

الحلزونى ـ الفا. ويكون سريان الخيوط المتجاوره فى الصفيحة المنطوية ـ بيتا إماً فى نفس الإتجاه (صفائح بيتا غير المتوازيه) أو يكون السريان فى اتجاه متضاد (صفائح ـ بيتا غير المتوازيه). فمثلا فبريون الحرير silk fibroin وهى مادة بروتينيه تُشكِّل العنصر الأساسى فى الحرير الطبيعى تتكون عادة من صفائح بيتا غير المتوازية المتراكمة فوق بعضها (شكل ٦ ـ ٢٠). وهنالك العديد من البروتينات التى تتكون من إثنين إلى خمسة خيوط من الصفائح المنطوية بيتا التى تكون متوازية أو غير متوازية.



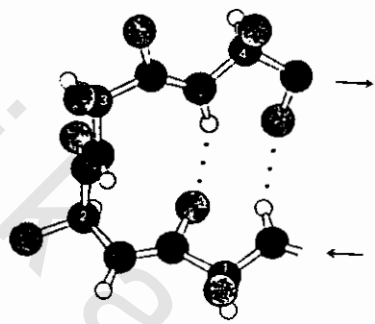
شكل ٦ ـ ٢٠

الصفيحة المنطوية بيتا غير المتوازية فى فبريون الحرير ـ تجرى الخيوط المتجاوره فى إتجاهات متضاده وتعمل الروابط الهيدروجينية بين مجاميع NH و CO للخيوط المتجاوره على استقرار هذا التركيب.

عكس إتجاه سلاسل عديد الببتيد بواسطة الدوران ـ بيتا يُؤدى إلى تكوين بروتينات كُرَيه

بينما تؤدى حرية الدوران حول ذره الكربون ألفا فى سلسلة عديد الببتيد إلى تكوين الحلزون ـ الفا والصفائح المنطوية ـ بيتا التى تجعل للبروتين هيئة ليفية، فإن الإنطواءات الإضافية الأخرى التى تؤدى إلى عكس إتجاه سلسلة عديد الببتيد مع حدوث تأثير متبادل

بين المجموعات الكيميائية التى تنفصل عن بعضها بمسافات كبيره تؤدى إلى تكوين بروتين مدمج (كرّى) globular Protein . والدراسات التى إجريت على التركيب ثلاثى الأبعاد لعدد كبير من البروتينات أوضحت أن إنعكاس إتجاه سلسلة عديد الببتيد يتم بواسطة تغيير طارئ على السلسلة يسمى الدوران ـ بيتا β - turn (شكل ٦ ـ ٢١).



شكل ٦ ـ ٢١

الدوران بيتا β-turn مجموعه CO للحمض الأمينى رقم واحد فى الببتيد الرباعى الموضح ترتبط برابطة هيدروجينية مع مجموعة NH فى الحمض الأمينى رقم أربعة.

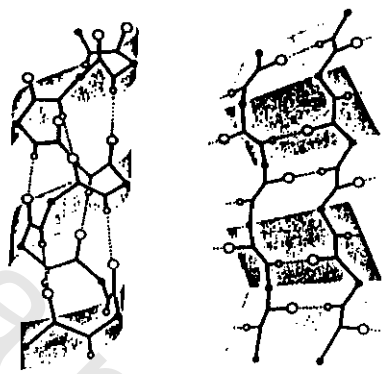
فى البروتينات المدمجة الكرّيه فإن المجموعات الطرفية -R غير القطبية للأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد توجد فى المناطق الداخلية من الجزئ، بينما توجد المجموعات الطرفية -R القطبية على السطح الخارجى للجزئ وغالبا ما تكون هذه المجموعات مرتبطة بروابط هيدروجينية بجزيئات الماء وذلك فى الأوساط المائية. وسلاسل عديد الببتيد فى هذه البروتينات تختلف فى درجة إحتوائها على الحلزون ـ ألفا وبعضها قد يحتوى على الصفائح المنطوية ـ بيتا.

مستويات التركيب فى بناء البروتين

تختلف البروتينات فى بنائها الكيميائى تبعا للاعتبارات التالية : (١) عدد ونوع الأحماض الأمينية وتتابعها فى سلاسل عديد الببتيد (٢) التوزيع الفراغى للذرات والمجموعات بالنسبة لبعضها فى السلسلة (٣) الشكل والبناء المجسم ثلاثى الأبعاد لجزئ البروتين (٤) إلتصاق جزيئات البروتين ببعضها مكونه تجمعات ذات وزن جزيئى مرتفع.

لذلك فإنه يمكن النظر إلى البناء الكيميائى للبروتين من خلال أربعة مستويات بناء (شكل ٦ ـ ٢٢) هى: البناء الأولى primary structure ويشير إلى تتابع الأحماض

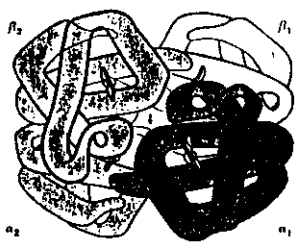
البناء الأولى Primary Structure (تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة البروتين)



الصفائح المنطوية ـ بيتا الحلزون ـ الفا

البناء الثانوى Secondary Structure

البناء الثالثى Tertiary Structure
سلسلة بروتين كاملة (السلسلة بيتا فى الهيموجلوبين)



البناء الرباعى Quaternary Structure
أربع سلاسل بروتينية في الهيموجلوبين تتجمع مع بعضها مكونه بروتين متعدد الوحدات.

شكل ٦ ـ ٢٢
مستويات البناء فى البروتين

obeikandl.com

الأمينية وارتباطها ببعضها البعض بواسطة الروابط الببتيدية وكذلك مواضع الروابط ثنائية الكبريتيد إن وجدت، ويترتب على ذلك بأن البناء الأولى للبروتين هو وصف كامل للارتباطات التساهميه. البناء الثانوى secondary structure للبروتين يشير إلى العلاقة الفراغية بين وحدات الأحماض الأمينية القريبه من بعضها فى التتابع الخطى، بعض هذه العلاقات الفراغية تكون من النوع المنتظم والتى تؤدى إلى تكوين بناء دورى كما فى نموذج الحلزون ـ الفا ونموذج الصفائح المنطوية. البناء الثالثى tretiary structure يشير إلى العلاقة الفراغية بين بواقى الأحماض الأمينية التى تنفصل عن بعضها بمسافات كبيره فى سلسلة عديد الببتيد، فثنى وطى سلسلة عديد الببتيد يؤدى إلى تكوين بناء مدمج. ويساعد على إستقرار هذا البناء قوى تجاذب بين المجموعات الطرفية فى السلسلة والتى تشمل الجسور الأيونية كالتى توجد بين مجموعة كربوكسيل من وحده أسبارتات ومجموعة أمينو فى وحدة أرجنين، والفعل المتبادل بين المجموعات الكارهه للماء والروابط الهيدروجينية. البروتينات المحتويه على أكثر من سلسلة عديد ببتيد واحدة تحتوى على مستوى آخر من التنظيم البنائى والذى يطلق عليه البناء الرباعى quarternary structure. يشير هذا البناء إلى كيفية إرتباط هذه السلاسل مع بعضها البعض، ويطلق على كل سلسلة عديد الببتيد فى البناء الرباعى بالوحدة الفرعية subunit، كما تعمل الروابط غير التساهمية أيضا على إستقرار البناء الرباعى.

البروتينات يمكن تصنيفها إعتماداً على الشكل أو مستوى البناء

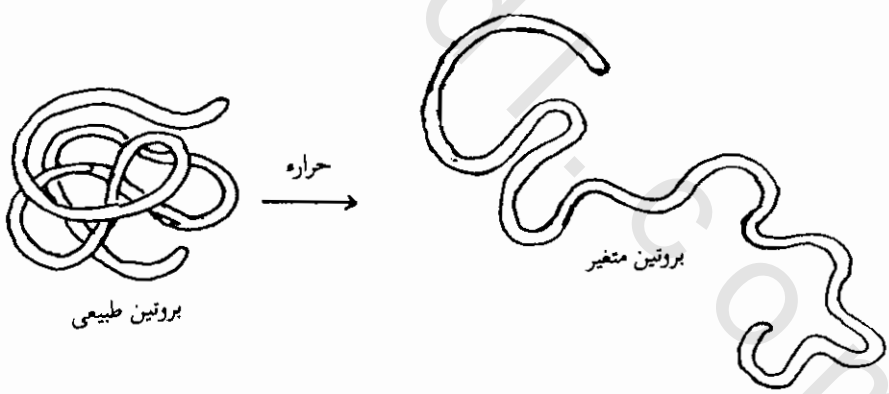
بناء على شكل أو مستوى البناء يمكن وضع البروتينات فى قسمين رئيسيين هما : البروتينات الليفية fibrous proteins والبروتينات الكرّيه globular proteins. وسلاسل عديد الببتيد فى البروتينات الليفية تكون فى هيئة الحلزون ـ ألفا أو الصفائح المنطوية ـ بيتا، وبذلك فإن سلاسل عديد الببتيد تكون منفرطة فى صورة ليفية أو صفائح وغالبا ما يكون لهذه البروتينات دوراً تركيباً مثل كولاجين الذى يوجد فى الشعر والجلد والأظافر والريش والمواد القرنيه. وهذه البروتينات لا تذوب فى الماء وفى محاليل الأملاح المخففة.

والبروتينات الكرّيه هى التى تتألف من سلاسل عديد ببتيد مُدْمجه وتأخذ شكل

كرِّى أو قطع ناقص وهى بذلك تحتوى على البناء الثالثى أو الرباعى ويكون لهذه البروتينات نشاط حركى كالدور الذى تقوم به الإنزيمات أو تقوم بعملية نقل الجزيئات الصغيرة مثل الالبيومين والهيموجلوبين. والجزء الأكبر من بروتينات الأنظمة الحية هى بروتينات كرِّيه والتى تذوب فى الأنظمة المائية وتكون لها نفاذية ملحوظة.

تغير طبيعة البروتين الأصلية (الدنتره)

البروتين فى الأنظمة الحية غالبا ما يكون له بناء مجسم ثلاثى الأبعاد والذى يشار إليه بالبناء الطبيعى. وغالبا ما ترتبط الوظيفة البيولوجية للبروتين بهذا البناء المجسم بما فيه من إنثناء وطى والتفاف. وهنالك عوامل عديدة تفسد هذا الترتيب الخاص منها التسخين، إضافة حامض قوى أو قاعده قوية أو كحول أو يوريا، وأحيانا يحدث الإفساد بالأشعة فوق البنفسجية أو الأشعة السينية. فتؤدى هذه العوامل إلى إبطال التأثيرات المتبادلة والإرتباطات غير التساهمية وتتحول بذلك الهيئة البنائية للبروتين من الحالة الطبيعية إلى بناء ذى التفافات عشوائيه (شكل ٦ ـ ٢٣). وهذا الافساد والذى يشار إليه بتغير طبيعة البروتين



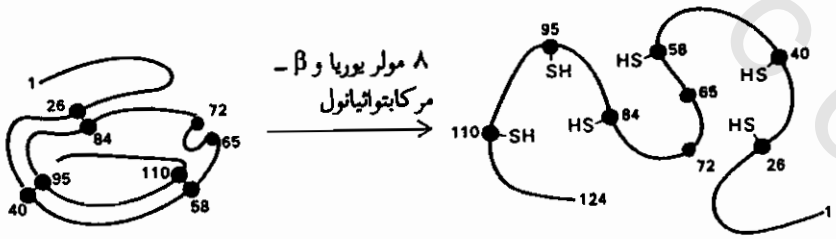
شكل ٦ ـ ٢٣

تغير الطبيعة الأصلية للبروتين (الدنتره) وتحويله إلى شكل عشوائى غير منتظم. هذا التغير يكون مصحوبا بتفكيك الإرتباطات غير التساهمية.

الأصلية أو الدنتره denaturation يصاحبه هدم البناء الثانوى أو الثالثى أو البناء الرباعى للبروتين. وقد يكون تغيير طبيعة البروتين الأصلية عكسياً أى أنه يمكن للبروتين أن يعود ثانيه إلى حالته الطبيعية بإزالة العامل المؤثر، أو قد يكون هذا التفاعل غير عكسى فلا يعود البروتين إلى بنائه الأصلى.

تتابع الأحماض الأمينية يحدد التركيب ثلاثى الأبعاد

كان لنتائج أبحاث Christian Anfinsen على انزيم الريبونيوكليز ribonuclease (وهو الانزيم الذى يفكك الحامض النووى RNA) الأثر الكبير فى التعرف على العلاقة بين تتابع الأحماض الأمينية لبروتين ما وهيئته التركيبيه. يتكون الريبونيوكليز من سلسلة عديد ببتيد واحدة ويحتوى على ١٢٤ حمض أمينى واربع روابط ثنائية الكبريتيد disulfide bonds . وعندما تم معاملة الريبونيوكليز بواسطة عامل دنتره مثل اليوريا (٨ مولر) وبيتا ـ مركابتو ايثانول كعامل مختزل الذى يفكك الروابط ثنائية الكبريتيد، فإن سلسلة عديد الببتيد للريبونيوكليز تتحول من الهيئة الطبيعية إلى هيئة ذى التفاف عشوائى ومختزله (اختزال الروابط ثنائية الكبريتيد)، كما يوضح ذلك التغير فى اللزوجة وطيف الدوران الضوئى. والانزيم فى الهيئة الملتفة عشوائيا والمختزله يكون مجرد من أى نشاط انزيمى، بمعنى آخر فإن الريبونيوكليز قد تدنتر بهذه المعاملة (شكل ٦ ـ ٢٤).



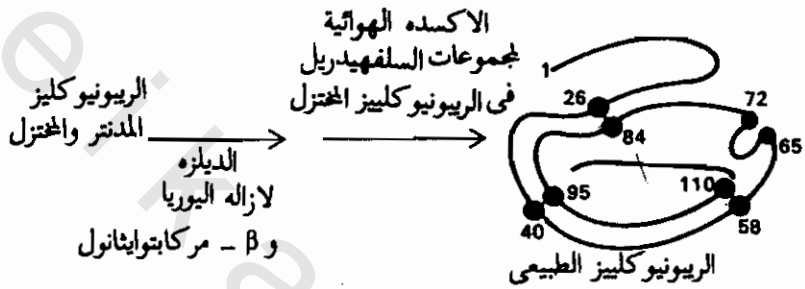
الريبونيوكليز البطبيعى

الريبونيوكليز المدنتر والمختزل

شكل ٦ ـ ٢٤

اختزال ودنتره الريبونيوكليز

لاحظ Anfinsen أيضا أن إزالة اليوريا وبيتا ـ مركابتوايثانول بالديلزه dialysis تؤدى إلى استرجاع النشاط الانزيمى ولكن ببطئ. وأدرك عندها أن مجاميع السلفيهيدريل فى الانزيم المدنتر تتأكسد بالهواء وبالتالى يعاد انطواء الانزيم ويستعيد هيئته الفعّالة. وأوضحت دراسات لاحقة فيما بعد أنه بالامكان استرجاع كامل للنشاط الانزيمى الأصلى إذا تمت اكسدة مجاميع السلفهيدريل تحت ظروف مناسبة (شكل ٦ ـ ٢٥). كما لوحظ



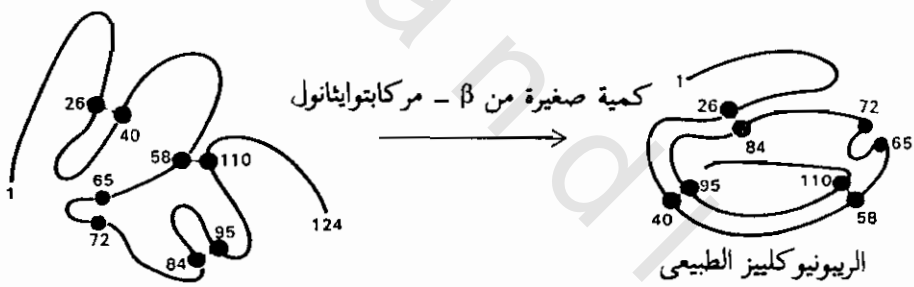
شكل ٦ ـ ٢٥

ازالة الدنترة renaturation للريبونيوكليز

أن الصفات الطبيعية والكيميائية للانزيم الذى استرجع نشاطه (أى الذى اعيد انطواءه) كانت مشابهه تماما للانزيم الطبيعى. وتوضح هذه التجارب أن المعلومات اللازمة لتحديد التركيب المعقد ثلاثى الأبعاد للريبونيوكلييز تكون موجودة فى تتابع الأحماض الأمينية لهذا الإنزيم. الدرسات التى اجريت بعد ذلك على بروتينات أخرى اكدت عموميه هذه القاعدة التى تمثل أحد المبادئ الاساسية فى البيولوجيا الجزيئية، أى أن التتابع يحدد الهيئة التركيبية.

تم الحصول على نتائج مختلفة تماما عن المذكورة أعلاه عندما اعيدت اكسده الريبونيوكلييز المختزل وهو لازال موجوداً فى محلول ٨ مولر يوريا، بعدها أجريت عمليه ديلزه للمستحضر لازاله اليوريا. ووجد أنه نتيجة لاعادة اكسدة الريبونيوكلييز بهذه الطريقة بأنه يحتوى على ١ ٪ فقط من النشاط الانزيمى للبرو تين الطبيعى. والسؤال الذى طرح نفسه فى حينها، لماذا اختلفت نتائج هذه التجربة عن التجربة التى اعيد فيها اكسده الريبونيوكلييز فى غياب اليوريا؟. إن السبب فى ذلك يرجع إلى تكوين روابط ثنائية

الكبريتيد خاطئة عندما اعيد اكسده الهيئة الملتفه عشوائيا والمختزله فى وجود اليوريا. فهنالك ١٠٥ طريقة لربط (ازدواج) ٨ جزيئات سستئين لتكوين أربعة روابط ثنائية الكبريتيد: وواحدة فقط من هذه الاتحادات تؤدى إلى تكوين الانزيم النشط، أما الازدواجات الـ ١٠٤ الأخرى فقد اطلق عليها مجازاً scrambled ribonuclease. ووجد Anfinsen بعد ذلك ان الـ scrambled ribonuclease تتحول إلى الإنزيم النشط الطبيعى بإضافة كمية قليلة من بيتا ـ مركابتوايثانول التى وجد أنها تساعد على إعادة ترتيب الروابط ثنائية الكبريتيد حتى يتم الحصول على التركيب الطبيعى (شكل ٦ ـ ٢٦). ويصاحب تحول هيئة srambled ribonuclease إلى الهيئة الطبيعية انخفاض فى الطاقة الحرة للنظام. ويبدو من ذلك أن الهيئة الطبيعية للريبونيوكلييز هى أكثر التركيبات إستقراراً من ناحية الحركة الحرارية.



شكل ٦ ـ ٢٦

تكوين الريبونيوكلييز الطبيعى من Scrambled ribonuclease فى وجود كمية قليلة من بيتا (β) ـ مركابتوايثانول

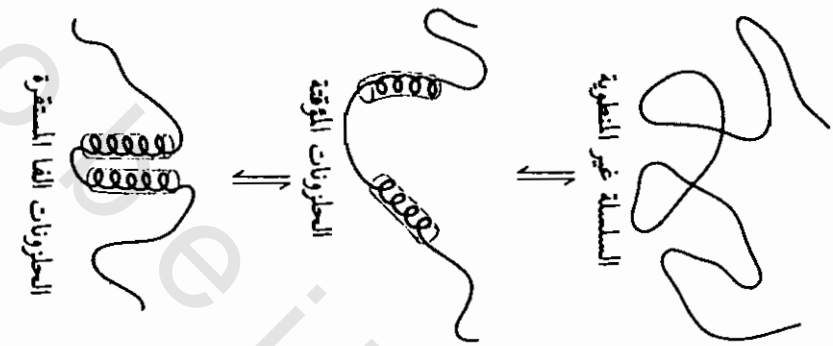
طى البروتينات يتم بواسطة اتحاد الأجزاء الحلزونية ـ الفا والخيطية ـ بيتا

كيف تتحول سلسلة عديد الببتيد غير المنطوية إلى البروتين الكرّى المحتوى على انطواءات عديدة؟. أحد الاحتمالات هو أن سلسلة عديد الببتيد تمر بكل الصور التركيبيه المحتمله فى محاوله للبحث عن أكثر الصور استقراراً من ناحية الطاقة. كم هو الوقت الذى يستغرق فى هذا البحث (الاستكشاف) العشوائى؟. دعنا نأخذ بروتين صغير يحتوى

على ١٠٠ حمض أميني كمثال، ولنفترض أيضا أن كل حمض أميني يمكن أن يتواجد في ثلاثة صور تركيبية مختلفة. بناء على ذلك فإن العدد الكلي للتراكيب الممكنه للبروتين تساوى $٣^{١٠٠}$ والتي تساوى ٥×١٠^{٤٧}. وإذا فرضنا أن الوقت اللازم للتحول من تركيب لآخر يقدر بـ $١٠^{-١٣}$ ثانية، فإن وقت الاستكشاف الكلي اللازم للوصول إلى التركيب الأكثر استقراراً يقدر بـ $٥\times١٠^{٤٧}\times١٠^{-١٣}$ ثانية والذى يساوى ٥×١٠^{٣٤} ثانية أو $١,٦ \times ١٠^{٢٧}$ سنة. لاحظ أن هذا الوقت هو أقل تقدير وذلك لأن لكل حمض أميني أكثر من ثلاثة صور تركيبية، كما أن الوقت اللازم للتحول من صورة تركيبية للبروتين إلى أخرى هو أكثر من $١٠^{-١٣}$ ثانية. ويبدو من ذلك أن زمن طى البروتين يكون طويل جداً إذا تم بالمحاولة العشوائية لكل الصور التركيبية المتاحة لتحديد أى منها يكون أفضل من ناحية الطاقة.

كيف يمكن إذاً طى البروتين خلال عدة ثوانى أو عدة دقائق؟. إن الإجابة على هذا السؤال ليست معروفه بعد، لكن أحد الفرضيات تقترح أن الامتدادات أو الأجزاء الصغيرة للتركيب الثانوى تعمل كوسيط فى عملية الطى. وتبعا لهذه الفرضية، فإن أجزاء صغيرة (تقدر بـ ١٥ حمض أميني) من سلسلة عديد الببتيد غير المنطوية تتأرجح (تتردد) flicker إلى داخل وخارج هيئة الحلزون ـ الفا الطبيعي والصفيحة ـ بيتا. وهذه التركيبات الموقته تلتقى مع بعضها البعض بواسطة الانتشار مكونة معقد الذى يعمل على زيادة استقراريتها (شكل ٦ ـ ٢٧). مثال ذلك قد يلتقى جزئين حلزون ـ الفا أو خيطين ـ بيتا أو شكل حلزونى ـ الفا مع خيط ـ بيتا. وهذه المعقدات الفا ـ الفا ($\alpha\alpha$) وبيتا ـ بيتا ($\beta\beta$) أو الفا ـ بيتا ($\alpha\beta$) والتى تعرف بوحدات الطى folding units تعمل كانوية لزيادة استقرار العناصر المترددة الأخرى فى التركيب الثانوى. وقد تم تدعيم هذا النموذج بادلة تجريبية متعددة.

أولا: للأحماض الأمينية المكونه لسلسلة عديد الببتيد دور كبير فى تحديد التركيب الثانوى للبروتين، فتكوين الحلزون ـ الفا يدعم بواسطة بواقى الأحماض الأمينية جلوتامات ومثيونين وألآنين وليوسين، بينما تكوين الصفائح ـ بيتا يعزز بواسطة بواقى الأحماض الأمينية ڤالين وأيسو ليوسين والتيروزين.



شكل ٦ ـ ٢٧

الخطوات المقترحة فى عملية طى البروتين. جزئين من سلسلة عديد الببتيد غير المنطوية تكونان الشكل الحلزونى الفا بصورة مؤقتة. وهذه الأجزاء الحلزونية الفا تُثبّت (تستقر) بتكوين معقد بين هذين الجزئين.

ثانيا : فإن الانتقال من الهيئة الملتفة عشوائيا إلى هيئة الحزون ـ الفا يتم فى أقل من جزء فى المليون من الثانية، وبالتالى فإن الأجزاء الصغيرة من التركيب الثانوى يمكن أن تتكون بسرعة كبيرة.

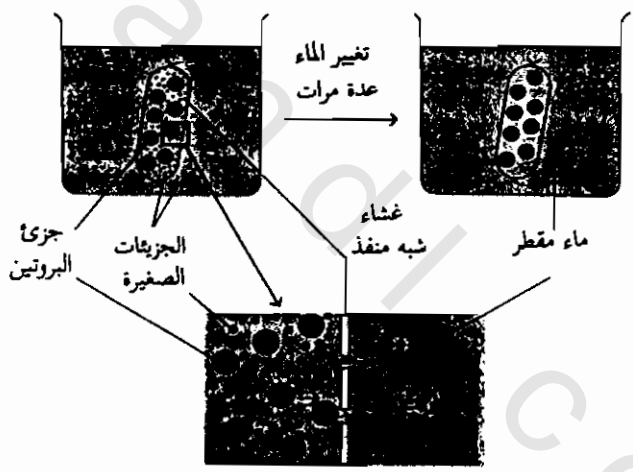
ثالثا : إن وحدات الطى المقترحة (المعقدات $\alpha\alpha$ و $\beta\beta$ و $\alpha\beta$) هى فى الحقيقة عناصر رئيسية فى تركيب البروتين. أن التحدى الذى يواجه البيوكيميائيين الآن هو الكشف والتعرف على التراكيب الوسيطة فى عملية الإنطواء، أى الطرق التى تسلكها سلسلة عديد الببتيد للتحول إلى بروتين ذو مواصفات معينة ووظيفة محدده.

يمكن تنقية البروتينات بواسطة تقنيات مختلفة

تحتوى الخلايا الحية على مئات إن لم يكن آلاف من أنواع البروتينات المختلفة. ويعتبر فصل وتنقية بروتين ما أحد الخطوات الأساسية فى اتجاه التعرف على تركيب وآلية (ميكانيكية) عمل هذا البروتين. وقد تم حتى الآن فصل وتنقيه عدة آلاف من

البروتينات المختلفة فى صورة نقية. وبالامكان فصل البروتينات عن بعضها البعض وعن الجزيئات البيولوجية الأخرى على أساس الحجم والذوبانيه solubility والشحنه والفه الارتباط المتخصص. ولتنقيه بروتين ما، عادة ما يتم اختبار عدة طرق، ويتم تقييم كفاءة كل طريقة باختبار خاصية معينة للبروتين المراد تنقيته. فالاختبار المستخدم لانزيم ما يعتمد على نشاطه الحفزى المتخصص. كما تقدر كمية البروتين الكلية فى المستحضر حتى يمكن تقييم درجة التنقية المتحصل عليها فى خطوه ما اثناء الفصل.

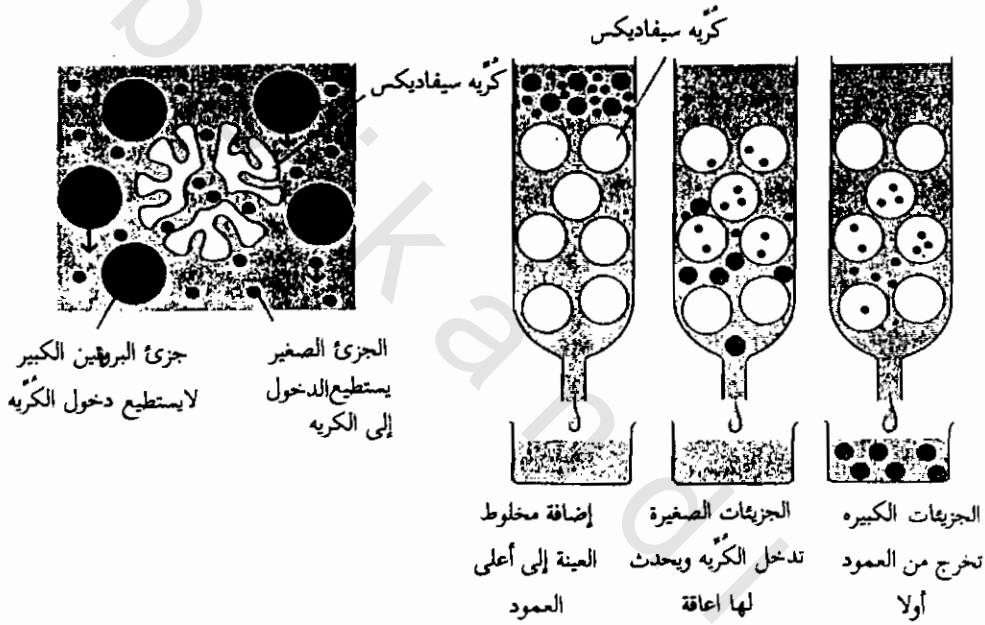
بالامكان فصل البروتينات عن الجزيئات الصغيرة بواسطة الديلزه dialysis خلال غشاء شبه منفذ (شكل ٦ ـ ٢٨). فالجزيئات التى تكون كتلتها فى حدود ١٥ كيلو



شكل ٦ ـ ٢٨

فصل الجزيئات على أساس الحجم بواسطة الديلزه. الغشاء شبه منفذ لكيس الديلزه يسمح بعبور الجزيئات المذابة الصغيرة مثل كلوريد الصوديوم والجلوكوز، بينما لا يسمح بمرور الجزيئات الكبيرة مثل البروتين. والجزيئات الصغيرة تتحرك من داخل كيس الديلزه إلى الخارج بواسطة الانتشار. وبتغيير الماء خارج كيس الديلزه عدة مرات فانه يمكن خفض تركيز الجزيئات الصغيرة بداخل الكيس إلى كمية صغيرة جداً

دالتون تحجز داخل كيس الديلزه، بينما الجزيئات الصغيرة والأيونات تمر خلال مسام (ثقوب) غشاء الديلزه إلى الخارج. وبالإمكان فصل البروتينات أيضا على أساس الحجم باستخدام تقنيه كروماتوجرافى الترشيح بالجيل gel - filteration chromagraphy (شكل ٦ ـ ٢٩). فتوضع العينة المراد فصل مكوناتها على الجزء العلوى لعمود فصل



شكل ٦ ـ ٢٩

فصل الجزيئات على أساس الحجم بواسطة كروماتوجرافى الترشيح بالجيل. يُمرَّر مخلوط الجزيئات على عمود يحتوى على كُرَيات سيفاديكس ذات مسام دقيقة. الجزيئات الصغيرة تستطيع المرور إلى داخل الكريات ولذلك يحدث لها اعاقة وتتأخر فى معدّل حركتها عن الجزيئات الكبيره التى لا تدخل إلى الكريات.

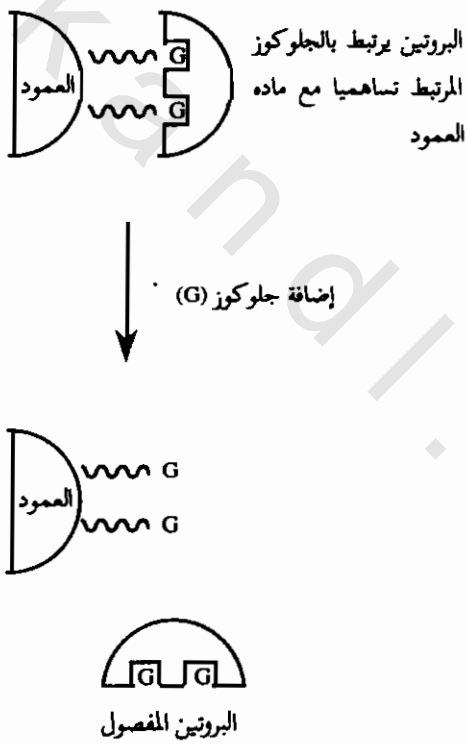
يحتوى على مبلمر كربوهيدراتى غير ذائب ولكنه على درجة عاليه من التميه hydrat-ed، ويوجد فى صوره كُرَيات ذات قطر ١, مم. وهناك عدة مستحضرات تجارية تستعمل لهذا الغرض منها السيفا ديكس Sephadex . تتمكن الجزيئات الصغيرة من دخول هذه الكُرَيات، بينما لا تتمكن الجزيئات الكبيره من ذلك، وينتج عن ذلك أن

تتوزع الجزيئات الصغيرة فى كل من المحلول المائى داخل هذه الكُرَيات والمحلول المائى الموجود بين هذه الكُرَيات، بينما تتواجد الجزيئات الكبيره فقط فى المحلول الموجود ما بين هذه الكُرَيات. ويؤدى ذلك أن تتدفق (تتحرك) الجزيئات الكبيره بسرعة خلال عمود الفصل وتغادره قبل الجزيئات الصغيرة.

يستعمل كروماتوجرافى التبادل الأيونى ion - exchange chromatography لفصل البروتينات على أساس شحنتها الصافية (النهائية) net charge. فإذا كانت الشحنة الصافية لبروتين ما موجبه عند رقم هيدرجينى ٧، فإن هذا البروتين سوف يرتبط بعمود التبادل الأيونى المحتوى على مجموعات كاربوكسيليه، بالمقابل لا يتمكّن البروتين الذى تكون شحنته الصافية سالبة من ذلك. وبالامكان بعد ذلك تحرير البروتين الموجب الشحنه من عمود الفصل بإضافة كلوريد الصوديوم أو أى ملح آخر إلى المحلول المنظم المضاف للعمود. فتتنافس أيونات الصوديوم مع المجاميع الموجبة الشحنة للبروتين على الارتباط بالمبادل الأيونى فى العمود، ويكون نتيجة لذلك أن تغادر البروتينات ذات الكثافة المنخفضة من الشحنات الصافية الموجبة أولا وتتبعها البروتينات ذات الكثافة الأعلى من نفس الشحنات، وهكذا. وتؤثر صافى الشحنة لبروتين ما أيضا على معدّل هجرته فى مجال كهربى، كما يتضح فى تقنيه الهجرة الكهربية (الالكتروتوريسيس electrophoresis). وتعتبر هذه تقنيه من التقنيات المهمة فى فصل البروتينات، فمثلا أمكن فصل أكثر من ألف بروتين مختلف من البروتينات الموجودة فى بكتريا القولون فى تجربه واحدة باستخدام الهجره الكهربائية ثنائية الاتجاه.

من التقنيات المهمة الأخرى المستخدمة لفصل البروتينات هى كروماتوجرافى الألفه affinity chromatography. وفى هذه التقنية يستفاد من الألفة العالية للعديد من البروتينات تجاه بعض المجاميع الكيميائية المتخصصة. فمثلا يمكن تنقية أحد البروتينات النباتية المسمى كونكاڤالين ـ أ (Concanavalin A) بامرار المستحضر الخام الذى يحتوى على هذا البروتين خلال عمود فصل يحتوى على جزيئات جلوكوز مرتبطة تساهميا بماده الأساس فى العمود. يرتبط كونكاڤالين ـ أ بعمود الفصل وذلك لوجود الفه بين البروتين وجزيئات الجلوكوز، بالمقابل لا تدمص البروتينات الأخرى فى المستخصر الخام

بعمود الفصل. ويمكن بعد ذلك الحصول على كونكاڤالين ـ أ من عمود الفصل بإضافة محلول مركز من الجلوكوز، حيث يقوم الجلوكوز فى المحلول بالاحلال محل جزيئات الجلوكوز المرتبطة بالعمود من مواضع الارتباط بالكونكاڤالين ـ أ (شكل ٦ ـ ٣٠). وبصورة عامة يمكن استعمال كروماتوجرافى الالفة بشكل فعال لفصل بروتين ما له أُلفه عاليه لمجموعه كيميائيه ما ولنفرض أنها (X) بالصور التالية (١) تُربط المجموعة X أو أحد مشتقاتها تساهميا بماده الأساس فى العمود (٢) إضافة مخلوط البروتينات إلى هذا العمود، ثم غسل العمود مع محلول منظم لازاله البروتينات غير المرتبطة (٣) الحصول على البروتين المرتبط بعمود الفصل (البروتين المفصول) بإضافة تركيز مرتفع من الصورة الذائبة لـ X.



شكل ٦ ـ ٣٠

كروماتوجرافى الالفه لبروتين كونكاڤالين ـ أ على عمود يحتوى على وحدات جلوكوز مرتبطة تساهميا مع ماده أساس العمود

الطرق التجريبية لتحديد تتابع الأحماض الأمينية

دعنا نتعرف أولا على كيفية تحديد تتابع الأحماض الأمينية فى ببتيد قصير، ولنفترض أن هذا الببتيد يحتوى على ستة أحماض أمينية بالتتابع التالى:

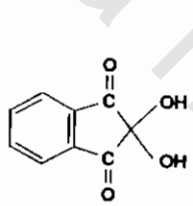
Ala - Gly - Asp - Tyr - Arg - Gly

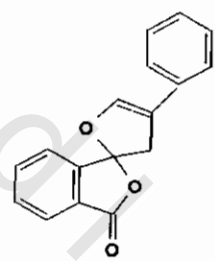
هناك ثلاثة خطوات أساسية للتعرف على تتابع الأحماض الأمينية فى هذا الببتيد :

الخطوة الأولى : تحديد مكونات الببتيد من الأحماض الأمينية

يتم التحليل المائى للببتيد لمكوناته من الأحماض الأمينية بتسخينه مع محلول ٦ عيارى حمض هيدروكلوريك على درجة ١١٠°م لمدة ٢٤ ساعة. تفصل بعد ذلك الأحماض الأمينية من ناتج التحلل المائى hydrolysate بواسطة كروماتوجرافى التبادل الأيونى فى

نتهيدرين

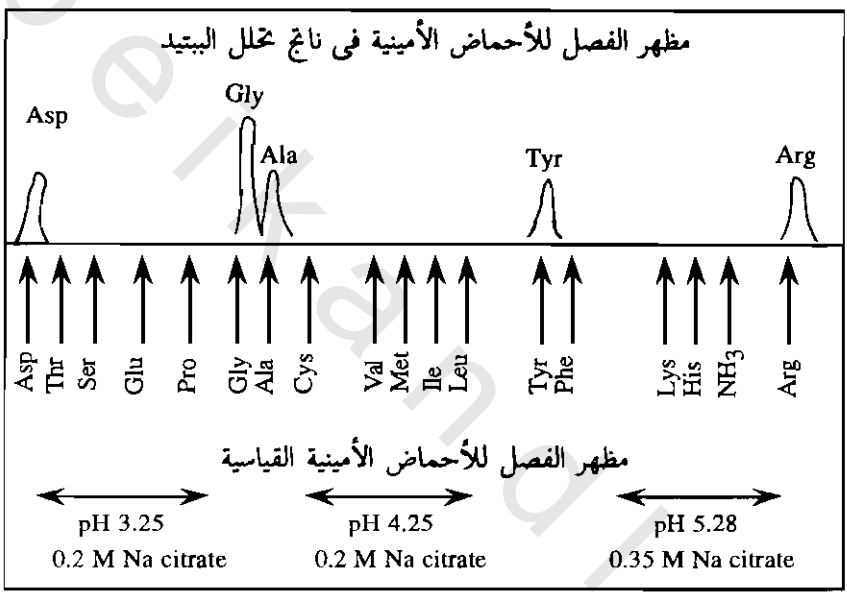




فلورى سكامين

عمود فصل معبأ بالبولى ستيارين المسلفن Sulfonated polystyrene. ويكشف عن الأحماض الأمينية المفصولة بواسطة اللون الناتج من تسخينها مع النِنهيدرين ninhydrin: حيث تعطى الأحماض الأمينية ـ ألفا لون أزرق كثيف، بينما تعطى أحماض الايمينو مثل البرولين لون أصفر. وتعتبر هذه التقنيه حساسه جداً حيث أنه بالامكان الكشف عن كميات صغيرة جداً من حمض أمينى ما تقدر بالمايكرجرام. وتتناسب كميه الأحماض الأمينية الموجودة فى المحلول طردياً مع الامتصاص الضوئى. كما يمكن الكشف عن كميات صغيرة جداً من الأحماض الأمينية قد تصل إلى نانوجرام (واحد نانوجرام =

10^{-9} من الجرام) باستخدام مركب فلورى سكامين fluorescamine ، الذى يتفاعل مع مجموعة الأمينو ـ الفا فى الحمض الأمينى لينتج مركب على درجة عالية من الأشعاع الضوئى. ويمكن التعرف على نوع الحمض الأمينى من حجم الازالة elution volum الخاص به، وهو الحجم اللازم لإزاله (اخراج) الحمض الأمينى من عمود الفصل (شكل ٦ ـ ٣١) . ومقارنه السلوك الكروماتوجرافى للعينه (ناتج التحلل الحامضى



شكل ٦ ـ ٣١

الأحماض الأمينية المختلفة فى ناتج تحلل الببتيد يمكن فصلها بواسطة كروماتوجرافى التبادل الأيونى على البولى ستيارين المسلفن (مثل Dewex 50) . يستخدم محاليل منظمة متدرجة بالزيادة فى الرقم الهيدروجينى لازاله الأحماض الأمينية من العمود. الأسبارتات الذى يحتوى على مجموعة طرفية حامضية يخرج أولا، بينما الارجنين الذى يحتوى على مجموعة طرفية قاعدية يخرج فى الآخر.

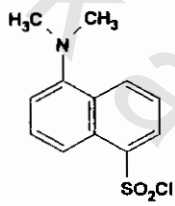
للببتيد) مع خليط قياسى من الأحماض الأمينية يوضح أن الأحماض الأمينية المكونه للببتيد هى:

(Tyr و Gly_2 و Asp و Arg و Ala)

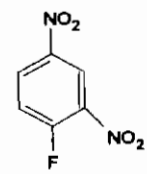
حيث تشير الاقواس إلى محتوى الببتيد من الأحماض الأمينية وليس تتابعها.

الخطوة الثانية : التعرف على الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى والطرف الكربوكسيلى

يمكن التعرف على الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى لسلسلة البروتين أو الببتيد بتعليم ذلك الحمض الأمينى مع مُركّب الذى يكوّن معه ارتباط تساهمى ثابت (شكل ٦ ـ ٣٢). فمركب فلوروداى نيتروبنزين (FDNB) fluorodinitrobenzene، الذى



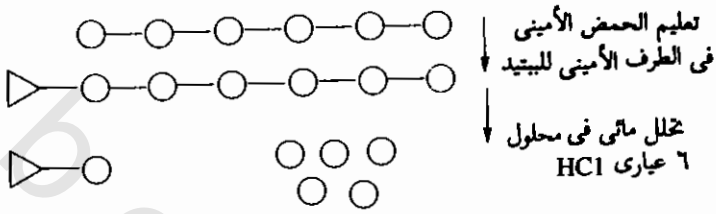
كلوريد الدانسيل

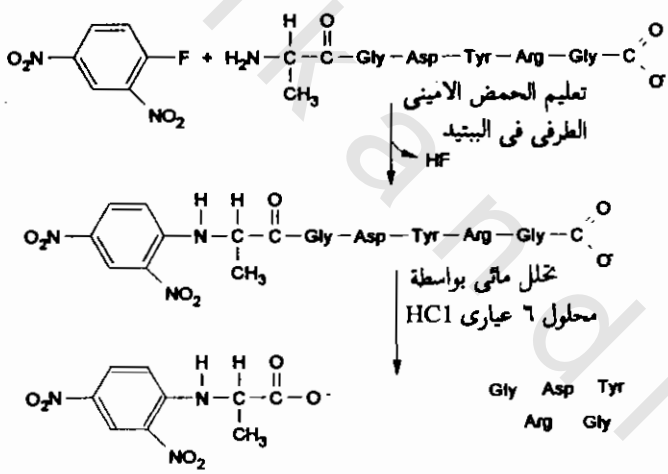


فلورو داى نيتروبنزين

استخدم أولا من قبل العالم سانجر Sanger، يتفاعل مع مجموعه الأمينو الفا - (α - NH_2) الخالية من أى شحنة مكونا مشتق داى نيتروفينايل dinitrophenyl (DNP) للببتيد أصفر اللون. والرابطة بين DNP ومجموعه الأمينو الطرفية تكون ثابته تحت الظروف المستخدمه لتحلل الروابط الببتيدية. وبتحلل الببتيد ـ DNP فى محلول ٦ عيارى حمض هيدروكلوريك ينتج مشتق الـ DNP للحمض الأمينى الطرفى، والذى يمكن التعرف عليه من خواصه الكروماتوجرافية، وفى هذا المثال يكون DNP ـ ألآنين.

وفى الوقت الحاضر غالبا ما يستخدم مركب آخر هو كلوريد الدانسيل dansyl chloride للتعرف على الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى، فيتفاعل هذا المركب مع مجموعه الأمينو ليكوّن مشتق من السلفوناميد sulfonamide الذى يكون على درجة عالية من الاشعاع الضوئى والثبات. وبالامكان الكشف عن نانوجرامات قليلة من الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى فى الببتيد أو البروتين بعد تحلل الروابط الببتيديه فيهما.





شكل ٦ ـ ٣٢

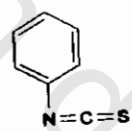
تحديد نوع باقى الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى للببتيد. مركب فلوروداى نيتروبنزين (كاشف سنجر) يستخدم لتعليم الحمض الأمينى الطرفى فى الببتيد، ثم يحلل الببتيد المعلم بواسطة محلول ٦ عيارى HCl. و DNP- حمض أمينى (وهو فى هذا المثال DNP- ألآنين) يتم التعرف عليه من خواصه الكروماتوجرافية.

obeikandl.com

يمكن أيضا تمييز الحمض الأمينى فى الطرف الكربوكسيلى لسلسلة الببتيد أو البروتين، وفى أحد هذه الطرق يحضن الببتيد أو البروتين مع إنزيم Carboxypeptidase الذى يحلل فقط الرابطة الببتيديه عند نهاية الطرف الكربوكسيلى للسلسلة. وبمعرفه أى من الأحماض الأمينية يتحرر أولا بفعل الانزيم على السلسلة، فإنه يمكن التعرف على الحمض الأمينى فى الطرف الكربوكسيلى.

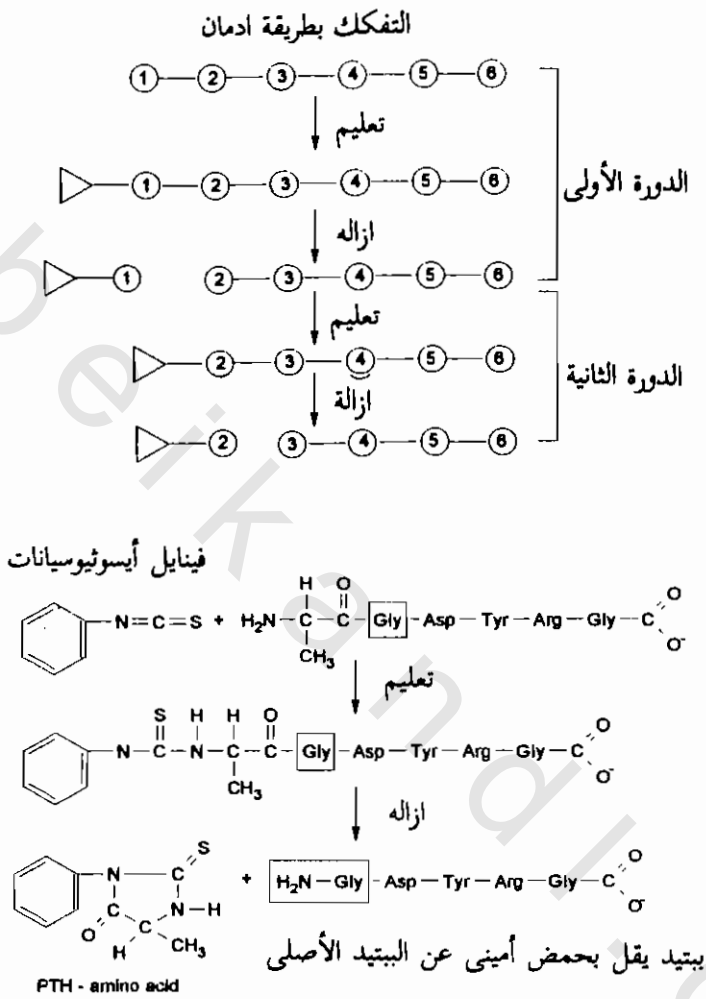
الخطوة الثالثة : تحديد تتابع الأحماض الأمينية فى الببتيد

بالرغم من أهمية طريقتى DNP وكلوريد الدانسيل للتعرف على باقى الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى فى الببتيدات والبروتينات، إلا أنه لا يمكن استخدامهما بصورة متكرره (أى مره بعد أخرى) على نفس الببتيد أو البروتين لأنهما يتحللان كليه فى الخطوه التى يستخدم فيها محلول حمض الهيدروكلوريك ٦ عيارى. ولقد تمكن بعد ذلك بير ادمان Pehr Edman من اكتشاف طريقة لتعليم الحمض الأمينى فى الطرف



فينايل أيسوثيوسيانات

الأمينى وتفككه من الببتيد بدون التأثير على بقية الأحماض الأمينية الأخرى فى الببتيد. وتعمل هذه الطريقة، أى التفكك بطريقة ادمان Edman degredation ، على إزاله حمض أمينى واحد وبصوره متعاقبه فى كل مرة تعاد فيها العملية من الطرف الأمينى للببتيد (شكل ٦ ـ ٣٣). وفى هذه الطريقة يتفاعل فينايل أيسوثيوسيانات phenyl iso-thiocyanate مع مجموعة الأمينو الطرفية عديمة الشحنة فى الببتيد لينتج مشتق لفينايل ثيوكاربااميل Phenylthiocarbomyl . وتحت الظروف الحامضية المعتدله يتم تحرير مشتق حلقى للحمض الأمينى الطرفى تاركا ببتيد سليم يقل بحمض أمينى عن الببتيد الأصلى. والمركب الحلقى المتحرر من الببتيد هو فينايل ثيوهايدانتوين ـ حمض أمينى Phenylthiohydantion - amino acid (أو PTH - amino acid)، والذى يمكن



شكل ٦ ـ ٣٣

التفكك بطريقة ادمان. باقى الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى والمعلم (PTH ـ ألانين فى الدورة الأولى) يمكن ازالته بدون تفكك الروابط الببتيديه الأخرى. وعلى ذلك فإن باقى الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى فى الببتيد القصير الناتج من الدورة الأولى (Gly - Asp - Tyr - Arg - Gly) يمكن تحديده فى الدورة الثانية. كما أن ثلاثة دورات أخرى من تفكك ادمان تمكننا من المعرفة الكاملة لتتابع الأحماض الأمينية فى الببتيد الأصلى.

التعرف عليه بواسطة طرق الكروماتوجرافى المختلفة. بالإضافة إلى ذلك فإن تركيب الببتيد بعد أن نقص منه حمض أمينى واحد يكون

$$(Arg , Asp , Gly_2 , Tyr)$$

والذى يمكن مقارنته بالببتيد الأصلى

$$(Ala , Arg , Asp , Gly_2 , Tyr)$$

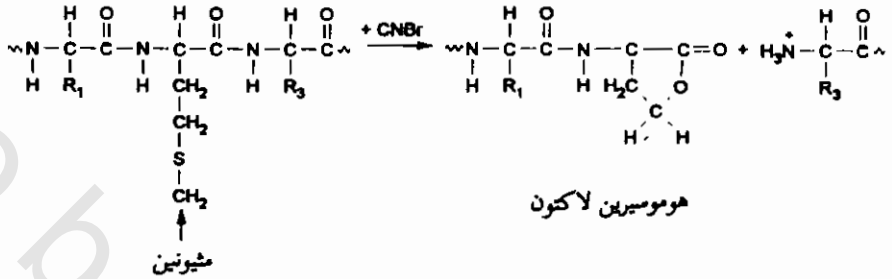
والاختلاف بينهما فى الحمض الأمينى ألآنين، والذى يشير إلى أن الألآنين هو الحمض الأمينى فى الطرف الأمينى للببتيد الأصلى. ويمكن بعد ذلك إعادة طريقة أدمان على الببتيد القصير الناتج من الدوره الأولى، عندها يكون تركيب الببتيد بعد الدوره الثانية هو

$$(Arg , Asp , Gly , Tyr)$$

والذى يظهر أن الحمض الأمينى الثانى من الطرف الأمينى هو جليسين. ويمكن التأكد من ذلك أيضا بالتعرف على PTH - glycine المتحصل عليه من الدوره الثانية بطرق الكروماتوجرافى. وهكذا فإنه باجراء تفكك ادمان ثلاثة مرات يمكن تحديد تتابع الأحماض الأمينية فى الببتيد الأصلى.

تحديد تتابع الأحماض الأمينية فى البروتين يتم بتجزئه البروتين، التعرف على تتابع الأحماض الأمينية فى الببتيدات الناتجة ثم ترتيب الببتيدات المختلفة من التطابق الجزئى بينهما

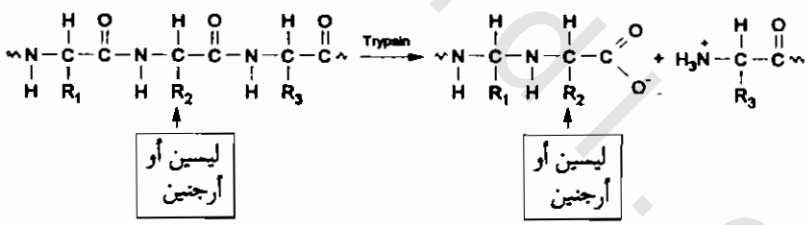
إن الطريقة العملية لتحديد تتابع الأحماض الأمينية للبروتين تبدء بالتجزئه المتخصصة للبروتين إلى ببتيدات صغيرة التى يمكن التعرف على تتابعها بواسطة طريقة ادمان. ويمكن إجراء التفكك المتخصص للبروتين إما كيميائيا أو انزيميا. فمثلا اكتشف كل من Bernhard Witkop و Erhard Gross أن سيانوجين بروميد (CNBr) يُفكّك سلسلة عديد الببتيد فقط فى جانب مجموعة الكربوكسيل لباقى المثيونين (شكل ٦ ـ ٣٤). ولذلك فإن البروتين المحتوى على عشره جزيئات مثيونين سوف ينتج أحدى عشر



شكل ٦ ـ ٣٤

تفكك عديد الببتيد بواسطة سيانوجين بروميد فى جانب مجموعه الكربوكسيل لباقى المثيونين

ببتيد نتيجة لتفككه بواسطة CNBr. وبالامكان أيضا الحصول على تفكك على درجة عالية من التخصص باستخدام التربسين trypsin، وهو أحد الانزيمات المحلله للبروتين ويمكن الحصول عليه من العصاره المعويه. ويحلل التربسين سلسلة عديد الببتيد فى جانب مجموعة الكربوكسيل الخاصة بالارجنين أو اللايسين (شكل ٦ ـ ٣٥). ولذلك



شكل ٦ ـ ٣٥

يقوم التربسين بتحلل عديد الببتيد فى جانب مجموعة الكربوكسيل لبواقى الأرجنين واللايسين

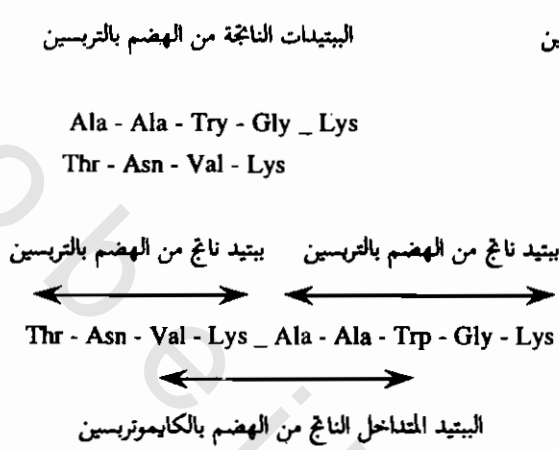
فإن البروتين الذى يحتوى على تسع جزيئات لايسين وسبع جزيئات أرجنين سوف يعطى سبع عشر ببتيد عند معاملته بالتربسين. اضف إلى ذلك أن كل ببتيد من هذه الببتيدات السبع عشر، فيما عدا ببتيد الطرف الكربوكسيلى، سوف ينتهى أما بجزئ أرجنين أو جزئ لايسين. ويوضح جدول (٦ ـ ٥) بعض الطرق المستخدمة فى التفكك المتخصص لسلاسل عديد الببتيد.

جدول ٦ ـ ٥

التفكك المتخصص لسلسة عديد الببتيد

الكاشف	موضع التفكك
التفكك الكيميائى	
سيانوجين بروميد	فى جانب الطرف الكربوكسيلى لباقى المثيونين
هيدروكسيل أمين	الروابط بين اسباراجين وجليسين
٢ ـ نيترو ـ ٥ ـ ثيوسيانوبنزوات	فى جانب الطرف الأمينى لباقى السستئين
التفكك الانزيمى	
تربسين	فى جانب الطرف الكربوكسيلى لبواقى كل من الليسين والارجنين
كلوستريبان Chlostripain	فى جانب الطرف الكربوكسيلى لباقى الأرجنين
بروتيز الـ Staphylococal	فى جانب الطرف الكربوكسيلى لبواقى كل من الاسبارتات والجلوتامات (الجلوتامات تحت بعض الظروف الخاصة)

والببتيدات المتحصل عليها بالتفكك الكيميائى أو الانزيمى المتخصص يتم فصلها بواسطة طرق الكروماتوجرافى. وبعد ذلك يحدد تتابع الأحماض الأمينية فى كل ببتيد منقًى بطريقة ادمان. عند هذه المرحلة فإن تتابع الأحماض الأمينية فى القطع المختلفة من البروتين يكون معروفا، إلا أن انتظام هذه الأجزاء بالنسبة لبعضها البعض لازال مجهولا. وبالامكان الحصول على المعلومات الإضافية والضرورية لهذا الغرض من الطريقة التى تُعرف بالببتيدات المتداخله overlap peptides (شكل ٦ ـ ٣٦)، حيث يتم اللجوء فى هذه الحالة إلى استخدام انزيم غير التربسين الذى يفكك سلسلة عديد الببتيد عند روابط ببتيديه أخرى. فمثلا يقوم الكايموتربسين chymotrypsin بتفكك الروابط الببتيديه من الجانب الكربوكسيلى لبواقى الأحماض الأمينية العطرية والأحماض الأمينية غير القطبية. ويتبع ذلك إجراء نفس العمليات المذكورة سابقا لتحديد تتابع الأحماض الأمينية فى



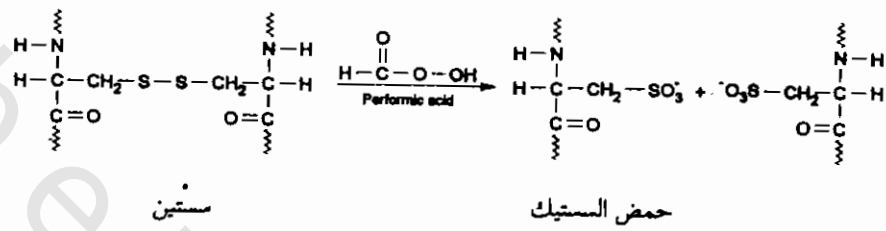
شكل ٦ ـ ٣٦

الببتيد الناتج من الهضم بالكايموتربسين يتداخل مع اثنين من الببتيدات الناتجة من الهضم بالتريسين، وبذلك يمكن تحديد انتظام هذه الببتيدات.

الأجزاء الناتجة من التفكك بالكايموتربسين. ونظرا لان الببتيدات الناتجة من التفكك بالكايموتربسين تتطابق جزئياً (متداخله) مع الببتيدات الناتجة من التربسين، فانه يمكن تحديد تتابع الأحماض الأمينية الكلى فى البروتين.

تستخدم هذه الطرق للبروتينات المتكونة من سلسلة عديد ببتيد واحدة ولا تحتوى على أى روابط ثنائية الكبريتيد. أما بالنسبة للبروتينات التى تحتوى على روابط ثنائية الكبريتيد أو تتألف من أكثر من سلسلة عديد ببتيد، فإن تحديد تتابع الأحماض الأمينية فيها يستلزم استخدام خطوات إضافية. فمثلا إذا كان البروتين مؤلف من سلسلتين عديد ببتيد أو أكثر يرتبطا مع بعضهما بواسطة الروابط غير التساهميه، فإن ذلك يستوجب استخدام عوامل دنتره مثل اليوريا أو جوانيدين هيدروكلوريد لفك السلاسل عن بعضها، كما يجب فصل السلاسل المفككة عن بعضها قبل البدء فى تحديد تتابع الأحماض الأمينية. أما بالنسبة لسلاسل عديد الببتيد التى ترتبط فيما بينها بواسطة الروابط ثنائية الكبريتيد كما هو فى الانسولين، فتستخدم الاكسده بحمض البيرفورميك performic

acid لشطر الروابط ثنائية الكبريتيد لتعطى بواقى حمض السستيك cysteic acid (شكل ٦ ـ ٣٧).



شكل ٦ ـ ٣٧

تفكك الرابطة ثنائية الكبريتيد بواسطة حمض البيرفورميك

ولقد تم تطوير طرق تحليل تركيب البروتينات بدرجة كبيرة بظهور جهاز تحديد التتابع sequenator، وهو جهاز يقوم بتحديد تتابع الأحماض الأمينية آليا. وفى هذا الجهاز فإن طبقة رقيقة جداً من البروتين الموضوعه على جدار وعاء أسطوانى دوّار تُعرَّض للتفكك بطريقة ادمان. وتمرر الكواشف ومذيبات الاستخلاص على طبقة البروتين الرقيقة وغير المتحركة، ومن ثم يمكن التعرف على PTH - amino acid المتحرر بواسطة كروماتوجرافى السائل ذو الضغط العالى. والدوره الواحدة من تفكك ادمان تستغرق أقل من ساعتين. ويمكن لجهاز تحديد التتابع من تحديد تتابع الأحماض الأمينية فى عديد الببتيد أو البروتين الذى يحتوى على عدد كبير من بواقى الأحماض الأمينية الذى قد يصل إلى مئه.

obeikandl.com

المراجع

Anfinsen, C.B. : Principles that Govern the Folding of Polypeptide Chains, Science, 181 : 223 - 230 (1973).

Cantor, C.R., and P.R. Schimmel : Biophysical Chemistry, Part I, The Confrmation of Biological Macromolecules, Fremman, San Francisco, 1980.

Conn, E.E., P.K. Stumph, G.B ruening, and R.H. Doi : Outlines of Biochemistry, 5th ed., John wiely & Sons, New York, 1987.

Cooper, T.G. : The Tools of Biochmistry, Wiley, New York, 1977.

Dickerson, R.E., and I.Geis : Proteins : Structure, Function, and Evolutin, 2nd ed., Benjamin / Cummings, Menlo Park, Calif, 1983.

Haschemeyer, R., and A.H. Haschemyer: Proteins: A Guide to Study by Physical and Chemical Methods, Wiley, New York, 1973.

Lehninger, A.L. : Principles of Biochemustry, Worth, New York, 1982.

Meister,A. : Biochemistry of Amino Aeids, 2nd ed., 2 vols., Academic Press, New York, 1965.

Neurath, H., and R.H. Hill (ed), The proteins, 3rd ed., Academic Press, New York, 1976.

Schultz, G. E., and R. H. Schirmer: Principles of protein Structure, Springer - Verlog, 1979.

obeikandl.com

Segel, I.H. : Biochemical Calculations, 2nd ed., Wiley, New York, 1976.

Stryer, L. : Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Zubay, G. (Coord. Author) : Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

obeikandl.com

تمارين

١ ـ احسب نقطة التعادل الكهربى (pI) والرقم الهيدروجينى الذى يوحد عنده اكبر عدد من الشحنات (pH_m) لـ (أ) جليْسين (ب) حمض اسبارتيك و(جـ) ولاْيسين.

٢ ـ أحد الإنزيمات الذى يحفز ازاله مجموعة الكربوكسيل من لاْيسين يستقبل فقط الصورة المتعادلة كهربائيا كمادة خاضعة. ما هو التركيز الحقيقى من لاْيسين المتعادل كهربائيا فى محلول تركيزه $١٠^{-٣}$ مولر لاْيسين فى محلول منظّم ذات رقمن هيدروجينى ٧,٦.

٣ ـ افترض أنك تريد تكوين ببتيد ثلاثى باستخدام جليسين، ألآنين وسيرين كوحدات بنائية.

(أ) كم عدد الببتيدات الثلاثية التى يمكن تحضيرها باستخدام أى من الأحماض الأمينية الثلاثة فى أى من المواضع الثلاثة إذا كان من الممكن استخدام أى حمض أمينى اكثر من مرة؟

(ب) كم عدد الببتيدات الثلاثية التى يمكن تحضيرها إذا استخدام كل حمض أمينى مرة واحدة؟

٤ ـ أحد الببتيدات العديدة التى فصلت من أحد النباتات لها التتابع التالى

Glu - His - Trp - Ser - Tyr - Gly - Leu - Arg - Pro - Gly

أحسب الشحنة النهائية على الجزئ عند (أ) رقم هيدروجينى ٥,٥ (ب) رقم هيدروجينى ٨ (جـ) رقم هيدروجينى ١١ (قيم الـ pK للمجموعات R للأحماض الأمينية Glu , His , Ser , Tyr و Arg هى ٤,٣ و ٦ و ١٣,٦ و ١٠ و ١٢,٤٨ على التوالى (د) احسب الرقم الهيدروجينى للتعادل الكهربى لهذا الببتيد.

٥ ـ معظم البروتينات النقية لا تذوب فى الماء المقطر النقى ولكن تذوب فى محاليل الأملاح المخففة مع ذلك فإن إضافة تركيز مرتفع من الأملاح المتعادلة إلى المحلول المائى للبروتين يؤدى إلى ترسيبه. هذه الظاهره يطلق عليها الترسيب الملحى Salting out. مثال ذلك أن معظم البروتينات تذوب فى محلول ١, مولر $(NH_4)_2SO_4$ ولكن عند زيادة تركيز $(NH_4)_2SO_4$ إلى ٣ مولر تترسب البروتينات. اقترح تفسير جزيئى لهذه الظاهرة فى ان التركيز المرتفع من الملح يؤدى إلى ترسيب البروتين.

٦ ـ عديد حمض الجلوتاميك polyglytamic acid وهو ببتيد عديد يتألف فقط من حمض الجلوتاميك يأخذ هيئة الحلزون المزدوج الفا عند رقم هيدروجينى ٣. مع ذلك فعند إرتفاع الرقم الهيدروجينى إلى ٧ يحدث إنخفاض كبير فى الدوران النوعى والذى يشير إلى تحوله إلى الهيئة العشوائية. من ناحية أخرى فإن عديد اللايْسين polylysine يأخذ هيئة الحلزون المزدوج الفا عند رقم هيدروجينى ١٠، ولكن عند انخفاض الرقم الهيدروجينى إلى ٧ يتبع ذلك أيضا انخفاض الدوران النوعى كما هو موضح فى الشكل التالى

ما هو تفسيرك لتأثير التغير فى الرقم الهيدروجينى pH على الهيئة الفراغية لعديد حمض الجلوتاميك وعديد اللايْسين ـ لماذا يحدث الإنتقال فى مدى ضيق من الـ pH

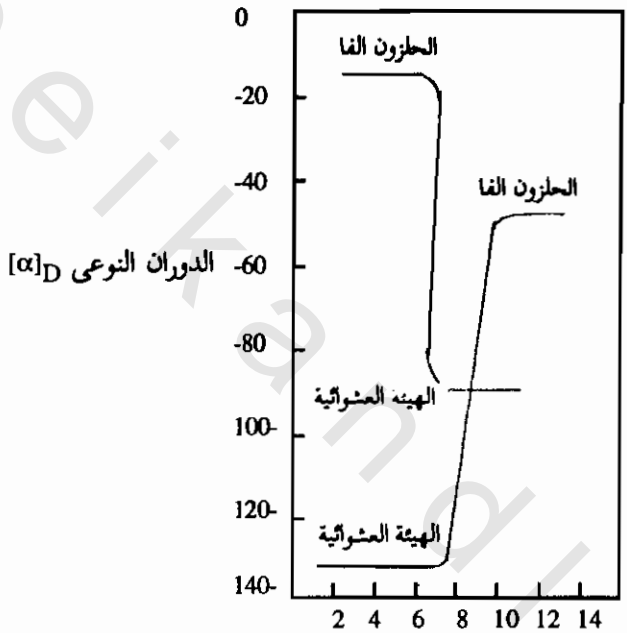
٧ ـ بينما معظم البكتريا تُقتل عند درجة حرارة أعلى من ٥٠°م، فإن بعض أنوع البكتريا المحبه للحراره thermophilic bacteria فتتحمل درجة الحرارة حتى ٧٠ ـ ٨٠°م. بأى طريقة تتوقع أن يختلف بروتين البكتريا المحبه للحراره عن بروتين البكتريا العادية.

٨ ـ الكولاجين وهو بروتين يوجد فى هيئة حلزونى ثلاثى يتميز بوجود التتابع (Gly

$(Gly - x - Hydprol)_n$ أو $- x - Pro)_n$ بصورة مكثفة حيث x تُمثل أى من الأحماض الأمينية الأخرى.

(أ) لماذا يتكرر جليسين كل ثلاثة أحماض فى السلسلة.

(ب) ما هى الروابط الأساسية التى تربط الثلاثة سلاسل مع بعضها مكونه حلزون ثلاثى.



٩ ـ إن استقرار الحلزون الفا لا يتحدد فقط بوجود الروابط الهيدروجينيه بين سلاسل عديد الببتيد ولكن أيضا بطبيعة الأحماض الأمينية فى سلاسل عديد الببتيد ـ أى من سلاسل عديد الببتد التالية ستأخذ الحلزون ألفا ـ أى منها سيكوّن أى تركيبات منتظمة أخرى ـ وأى منها لن يُكوّن أى تركيبات منتظمة.

(أ) عديد الليوسين (pH = 7)

(ب) عديد الأيسوليوسين (pH = 7)

(جـ) عديد الارجنين (pH = 7)

(د) عديد هيدروكسى برولين (pH = 7)

obeikandl.com

الانزيمات

Enzymes

عدد كبير من التفاعلات الكيميائية يتم تلقائيا وذلك بخلط المواد المتفاعلة مع بعضها، مثال لذلك تفاعل أيون الهيدروجين (H^+) مع أيون الهيدروكسيل (OH^-) عند خلط الأحماض والقواعد. والبعض الآخر مثل تفاعل جزيئات الهيدروجين (H_2) مع الاكسجين (O_2) لتكوين الماء لا تتم تلقائيا عند درجة حرارة الجو، ولكن يمكن إحداث هذا التفاعل برفع درجة الحرارة. وبالرغم من أن كلا التفاعلين يعتبرا إيجابيين من وجهه نظر الحركة الحرارية، بمعنى أن كل منهما يتم مع انطلاق كمية كبيرة من الطاقة الحرة، فإن التفاعل الثانى لا يتم بمعدّل محسوس عند درجة الحرارة العادية نتيجة لوجود حاجز حركى أو حاجز طاقة التنشيط activation energy barrier .

معظم التفاعلات الكيميائية فى الخلايا الحية لها حاجز طاقة التنشيط الذى يمنع حدوثها تلقائيا، وتتغلب الخلايا على هذا الحاجز بواسطة الانزيمات وهى عوامل حفز بروتينية. فالدور الذى تقوم به الإنزيمات هو إمكان إتمام التفاعلات الكيميائية فى الخلايا بمعدّل كبير تحت ظروف مناسبة لنمو الكائن الحى. ومن أهم خواص الإنزيمات على الإطلاق هو التخصص والحفز، كما أن فاعلية العديد من الإنزيمات تكون تحت تحكم

انزيم **Enzyme**

كلمة لاتينية تعنى فى الخميرة in yeast وذلك لأن عملية الحفز البيولوجى اكتشفت أولاً فى تخمر الجلوكوز إلى كحول بواسطة الخميرة.

obeikandl.com

تنظيمى دقيق. إضافة إلى ذلك تساهم بعض الإنزيمات فى تحويل أشكال مختلفة من الطاقة. لنأخذ الآن هذه الخصائص البيولوجية للإنزيمات وندرسها بشئ من التفصيل.

ما هى أنواع التفاعلات التى تُحفز بواسطة الإنزيمات؟

أمكن فى الوقت الحاضر التعرف على مايقرب من ألفى إنزيم، كما امكن أيضا التأكد من طبيعتها البروتينية. بعض الإنزيمات تتألف فقط من عديد الببتيدات ولاتحتوى على مجموعات كيميائية غير الأحماض الأمينية، والبعض الآخر يحتاج نشاطه إلى مجموعة كيميائية إضافية تُعرف بالعامل المساعد cofactor التى قد تكون أيون غير عضوى مثل Fe^{2+} أو Mn^{2+} أو Zn^{2+}، أو جزئ عضوى مركب الذى يُسمى حينئذ المرافق الإنزيمى coenzyme الذى عن إرتباطه بقوة بالإنزيم يوصف بالمجموعة التعويضية Prosthetic group.

تحفز الإنزيمات أنواع عديدة من التفاعلات الكيميائية فى الخلايا، وقد أمكن وضع الإنزيمات فى سته مجموعات رئيسية بناءاً على نوع التفلاعات التى تقوم بحفزها (جدول ٧ ـ ١)، وهذا التقسيم وضعته الهيئة الدولية للانزيمات. فى هذا التقسيم

جدول ٧ ـ ١

التقسيم الدولى للإنزيمات والذى يعتمد على نوع التفاعلات التى تقوم بحفزها

الرقم	الإسم النظامى للقسم	نوع التفاعل
١	إنزيمات الاكسدة والاختزال Oxidoreductases	تحفز تفاعلات الاكسدة والإختزال (نقل الالكترونات).
٢	إنزيمات النقل Transferases	تحفز نقل مجموعة كيميائية من جزئ إلى آخر.
٣	إنزيمات التحلل المائى (التميُّة) Hydrolases	تحفز تفكيك الروابط فى الجزئيات بإضافة الماء.
٤	الإنزيمات النازعة Lyases	تحفز إزالة مجموعة كيميائية أو إضافتها إلى رابطة مزدوجه.
٥	إنزيمات التشكُّل Isomerases	نقل مجموعات كيميائية داخل الجزئ لتكوين المتشاكلات isomers.
٦	إنزيمات الربط Ligases	تكوين روابط جديدة بإستخدام طاقة رابطة الفوسفات فى الادينوزين ثلاثى الفوسفات ATP.

يعطى كل إنزيم أربعة أرقام وإسم نظامى (تصنيفى) الذى يماثل نوع التفاعل المحفز. ففى التفاعل التالى:

$$ATP + D\text{ - glucose} \rightarrow ADP + D\text{ - glucose 6 - phosphate}$$

فإن الإسم النظامى للإنزيم الذى يحفز هذا التفاعل هو ATP : glucose phospho-transferase والذى يشير إلى أنه يحفز نقل مجموعة الفوسفات من ATP إلى الجلوكوز، والرقم النظامى لهذا الإنزيم هو (2.7.1.1) ، الرقم الأول وهو 2 يدل على إسم القسم وهو إنزيمات النقل transferase ، والرقم الثانى 7 يدل على تحت القسم الخاص بنقل مجموعة الفوسفات phosphotransferase . والرقم الثالث 1 يشير إلى تحت ـ تحت القسم الخاص بمجموعة الهيدروكسيل كمستقبل للفوسفات والرقم الرابع 1 يشير إلى أن الجلوكوز هو المستقبل لمجموعة الفوسفات. وعندما يكون الاسم النظامى للانزيم طويلا غير سهل الاستخدام فقد تستخدم الأسماء الشائعة وهو فى هذه الحالة Hexokinase .

للإنزيمات قوة حفز ضخمة: فتُعجل التفاعلات بعامل لا يقل عن مليون

تعمل الإنزيمات على تعجيل التفاعلات بعامل لايقل عن مليون. وفى الواقع لاتحدث معظم التفاعلات البيولوجية بمعدّل محسوس فى غياب الإنزيم. حتى التفاعلات البسيطة مثل إضافة جزئ ماء إلى ثانى أكسيد الكربون تحفز بواسطة أحد الإنزيمات.

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$

وبدون الحفز الإنزيمى لايكتمل نقل ثانى أكسيد الكربون من الانسجة إلى الدم ومن ثم إلى الحويصلات الهوائية. يحفز هذا التفاعل إنزيم carboinc anhydrase، وهو أحد الإنزيمات سريعة الحفز المعروفة. فيتمكن كل جزئ أنزيم من هيدره (hydration) ١×١٠^{٥} جزئ ثانى اكسيد الكربون فى الثانية. وتقدر سرعة هذا التفاعل فى وجود الانزيم بـ ١×١٠^{٧} مرة أسرع من التفاعل غير المحفز انزيميا.

الانزيمات على درجة عالية من التخصص

للانزيمات درجة عالية من التخصص لكل من نوع التفاعل التى تقوم بحفزه وفى اختيارها للمواد المتفاعلة التى يطلق عليها المواد الخاضعة substrate . فيحفز الانزيم عادة تفاعل كيميائى واحد أو مجموعة من التفاعلات المتماثلة، وتكون عادة درجة التخصص للمادة الخاضعة عالية، وأحيانا تكون درجة التخصص هذه مطلقة. فانزيم جالاكتوكينيز galactokinase المستخلص من الخميرة له تخصص مطلق حيث يحفز فقط نقل مجموعة الفوسفات من ATP إلى D- جالاكتوز، ولكنه لا ينقل نفس المجموعة إلى السكريات السداسية الأخرى مثل D- جلوكوز أو D- مانوز. انزيم هكسوكينيز hexoki-nase من ناحية أخرى له مدى أوسع من التخصص حيث يحفز نقل مجموعة الفوسفات من ATP إلى مجموعة متشابه تركيبياً من السكريات السداسية التى تشمل - D جلوكوز و D- مانوز و D- فركتوز.

وجانب آخر من تخصص الإنزيمات هو تخصصها بالنسبة للمتشكّلات الضوئية، فنجد أن إنزيمات L- amino acid oxidase تعمل فقط على المتشكّلات - L من الأحماض الأمينية، بينما تعمل إنزيمات D- amino acid oxidase على المتشكّلات - D للأحماض الأمينية. بعض الإنزيمات تكون متخصصة أيضا بالنسبة للمتشكلات الهندسية، فمثلا إنزيم الفيوماريز يضيف عناصر الماء أى H^+ و OH^- إلى المُتشكّل trans (فيومارات) بينما يكون غير نشط بالمرة تجاه المُتشكّل cis (ماليات) (شكل ٧ ـ ١).

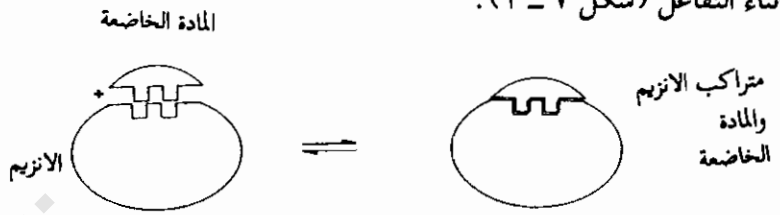
فيومارات Fumarate (رابطة مزدوجة trans)

ماليات maleate (رابطة مزدوجة cis)

شكل ٧ ـ ١

تفاعل إنزيم Fumerase وتخصصه لماده التفاعل. فالإنزيم متخصص بصوره مطلقة للفيومارات ولكنه لا يهاجم ماليات maleate

والدراسات التى أجريت على تخصص الإنزيمات لمادة التفاعل أدت إلى نظرية التطابق التركيبى بين جزئ ماده التفاعل ومنطقة محددة على سطح الإنزيم والتى تعرف بالمركز النشط active center أو مركز الحفز catalytic center والذى ترتبط به الماده الخاضعه أثناء التفاعل (شكل ٧ ـ ٢).

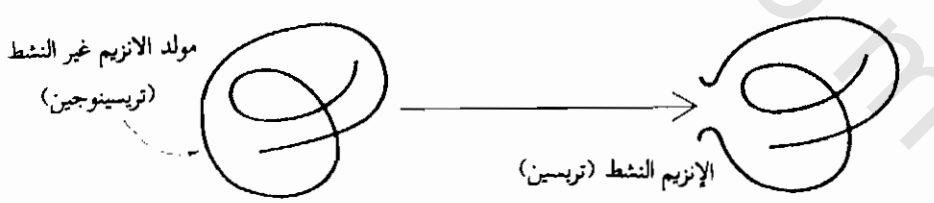


شكل ٧ ـ ٢

التطابق التركيبى بين المادة الخاضعة والمركز النشط للإنزيم

نشاط بعض الإنزيمات يتم تنظيمه

بالرغم من أهمية الإنزيمات فى تعجيل التفاعلات الكيميائية فى الخلايا وذلك لمقابله احتياجات الخليه من الطاقه والعناصر الخلوية، فإنه من الضرورى أيضا التحكُّم فى نشاط بعض الإنزيمات حتى تتكون هذه العناصر بالكميات المناسبة وفى الوقت المناسب. وهنالك طرق مختلفة للتحكم فى نشاط الإنزيمات، منها أن بعض الإنزيمات تُشيَّد فى صوره غير فعَّاله أو غير نشطه ومن ثم تنشط بعد ذلك فى الوقت والمكان المناسبين من الناحية الفسيولوجية كما هو الحال فى إنزيمات القناه الهضمية، فمثلا يصنع الترييسينوجين فى البنكرياس وينشط بعد ذلك بتحلل رابطة ببتيديه فى الأمعاء الدقيقة لتكوين الإنزيم الفعال أى الترييسين (شكل ٧ ـ ٣). يستعمل هذا النوع من التحكم



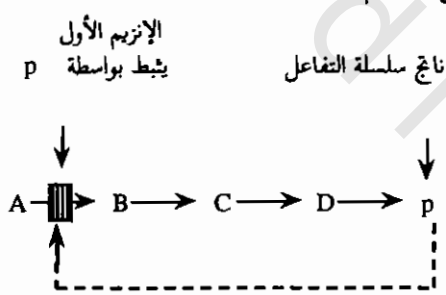
شكل ٧ ـ ٣

تنشيط الزايموجين بتحليل رابطة ببتيديه

أيضا فى سلسلة التفاعلات الإنزيمية المؤديه إلى تجلط الدم. ويطلق على الإنزيم فى حالته غير المنشطة بالزايموجين Zymogen (أو مولّد الانزيم) ويستخدم هذا الاصطلاح فقط فى حالة الانزيمات المحلله للبروتينات.

الطريقة الثانية للسيطرة على نشاط الإنزيمات هى التحوير التساهمى والمتمثله فى الإرتباط التساهمى لمجموعة صغيره بالإنزيم. فمثلا ينظم نشاط الإنزيمات التى تقوم ببناء وتحلل الجلايكوجين بربط مجموعه فوسفات إلى وحده سيرين متخصصه على هذا الانزيم، وبالإمكان عكس هذا التحوير بإزاله مجموعة الفوسفات، حيث تقوم انزيمات متخصصه فى المساعده فى ربط أو إزاله مجموعة الفوسفات.

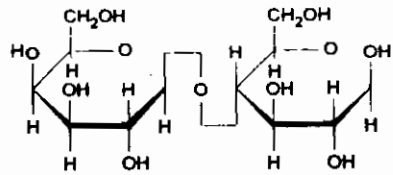
هنالك طريقة تحكم أخرى لنشاط الانزيمات يطلق عليها التثبيط بالتغذيه المرتده Feedback inhbition ، فعندما تتعاون مجموعة إنزيمات تعمل فى هيئة سلسله متتابعه فى تحويل أحد المركبات (A) إلى مركب آخر (P) فإن الناتج النهائى لسلسلة التفاعل عند زيادة تركيزه يقوم بتثبيط الخطوه الأولى فى التفاعل (شكل ٧ ـ ٤)، وذلك بارتباطه لاتساهميا مع الانزيم الذى يحفز هذه الخطوة.

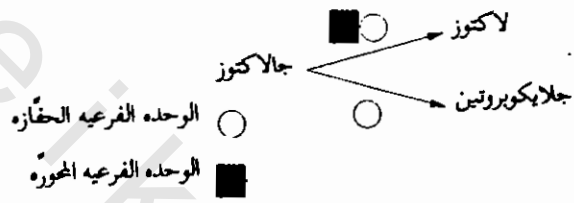


شكل ٧ ـ ٤

التثبيط بالتغذية المرتده. يقوم الناتج النهائى (p) لمسار سلسلة التفاعلات عند زيادة تركيزه بتثبيط الخطوه الأولى فى المسار بتثبيط الإنزيم الأول فى المسار.

تخصص بعض الانزيمات يكون أيضا تحت تحكم فسيولوجى، ومن أفضل الامثله لذلك هو بناء اللاكتوز فى الغده الثدييه (اللبنية) mammary gland (شكل ٧ ـ ٥). فانزيم لاكتوز سنثتيز lactose synthetase ، وهو الانزيم الذى يحفز بناء اللاكتوز، يتألف





شكل ٧ ـ ٥

سكر اللاكتوز (الذى يتألف من وحده جلوكوز ووحده جالاكتور) يبنى بواسطه انزيم يتألف من وحده فرعية حفّازه ووحده فرعيه محوّره. الوحده الفرعيه الحفازه بمفردها تحفز تفاعل مختلف.

من وحده فرعيه حفّازة calalytic subunit ووحده فرعيه محوّره modifier subunit. والوحده الفرعيه الحفّازه لا تستطيع بمفردها من بناء اللاكتوز، إلا أن لها دور آخر يتمثل فى حفز ربط الجالاكتوز إلى بروتين لتكوين الجلايكوبروتين. وتقوم الوحده الفرعيه المحوّره على تغيير تخصص الوحده الفرعيه الحفّازه بحيث تربط الجالاكتوز بالجلوكوز لتكوين اللاكتوز. ويتم التحكم فى مستوى الوحده الفرعيه المحوّره بفعل الهورمونات، فأثناء الحمل تتكون الوحده الفرعيه الحفّازه بكميات كبيره فى الغده الثدييه، إلا أن كمية الوحده الفرعيه المحوره تكون قليله. وعند الولاده فإن المستويات الهورمونيه تتغير كثيراً، ويترتب على ذلك أن تتكون الوحده الفرعيه المحوّره بكميات كبيره، ومن ثم ترتبط الوحدة الفرعيه المحوّرة بالوحده الفرعيه الحفّازه لتكوين معقد انزيم لاكتوز سنثتيز النشط الذى ينتج كميات كبيره من اللاكتوز: من ذلك يتضح ان الهورمونات تحدث تأثيراتها الفسيولوجيه بتغيير تخصص الإنزيمات.

الانزيمات تحول أشكال مختلفة من الطاقة

فى العديد من التفاعلات البيولوجية فإن طاقة المواد المتفاعله (المتفاعلات) تحفظ فى أشكال مختلفه من الطاقة بكفاءة عاليه. ففى البناء الضوئى photosynthesis على سبيل المثال تتحول الطاقة الضوئية إلى طاقة الروابط الكيميائية. وفى الميتوكوندريا فإن الطاقة المتضمنه فى الجزيئات الصغيره المشتقة من الغذاء تتحول إلى صوره قابله للتدول وهى الادينوزين ثلاثى الفوسفات (ATP)، وطاقه الروابط الكيميائية فى ATP تستخدم بعد ذلك بطرق مختلفه. ففى انقباض العضلات، تتحول طاقه ATP إلى طاقة ميكانيكية. كذلك تحتوى الخلايا والعضيات الخلويه المختلفه على مضخات pumps التى تستخدم ATP لنقل الجزيئات والأيونات ضد المتدرّج الكيميائى والكهربى. وتتم تحولات الطاقه هذه بمساعده جزيئات الانزيمات، والتى هى عباره عن أجزاء متكامله من تجمعات على درجة عاليه من التنظيم.

الانزيمات لاتغيرّ من إتزان التفاعل

الانزيم عباره عن عامل حفّاز calalyst ، ويترتب على ذلك أنه لا يستطيع أن يغير من موضع الاتزان equilibrium للتفاعل الكيميائى. إن ذلك يعنى ان الانزيم يعجّل التفاعل الأمامى forward reaction والتفاعل العكسى reverse reaction بنفس الدرجة. دعنا نأخذ التفاعل الكيميائى العكسى لتحول المركب S إلى المركب p، ولنفرض أنه فى غياب الإنزيم يكون معدّل التفاعل الامامى (K_F) يساوى ١٠$^{-٤}$ ثانية$^{-١}$ ، ومعدّل التفاعل العكسى (K_R) يساوى ١٠$^{-٦}$ ثانية$^{-١}$. إن ثابت المعدل للتفاعل عباره عن نسبه هاتين المعدّلين:

$$S \underset{K_R = (10^{-6}\ sec^{-1})}{\overset{K_F = (10^{-4}\ Sec^{-1})}{\rightleftharpoons}} P$$

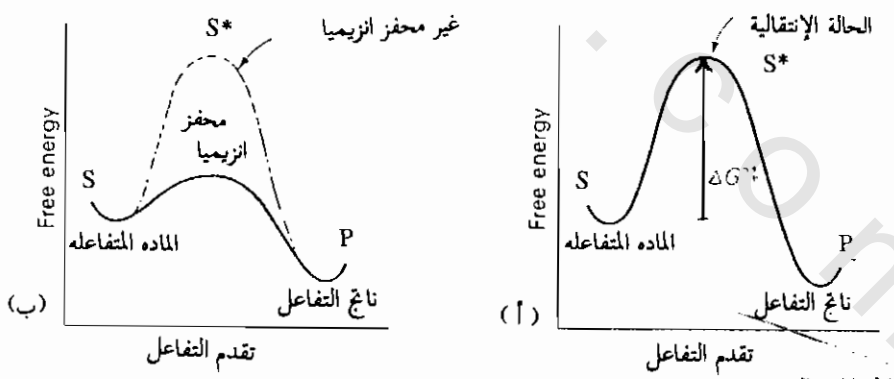
$$K = \frac{[P]}{[S]} = \frac{10^{-4}}{10^{-6}} = 100$$

عند حالة الاتزان، يكون تركيز P اكثر من تركيز S بمقدار ١٠٠ مره، سواء تم التفاعل فى وجود الانزيم أو بدونه. مع ذلك فإن التفاعل قد يستغرق عده ساعات للوصول إلى حاله الاتزان فى غياب الانزيم، بالمقابل فإن التفاعل قد يصل إلى حاله الاتزان خلال ثانيه واحده فى وجود الانزيم. نستنتج من ذلك أن الانزيم يعجِّل بالوصول إلى حاله الاتزان، ولكنه لا يغير موضع الاتزان للتفاعل الكيميائى.

الانزيمات تُعجِّل سرعة التفاعلات الكيميائية بخفض طاقة التنشيط

يهمنا الآن أن نوضح دور الانزيم كعامل حفّاز فى التفاعلات الحيويه. فالانزيمات عوامل حفّازه حقيقيه تعجل سرعة التفاعلات التى تحدث ببطئ شديد فى غياب الانزيم، مع ذلك فإن الانزيم لا يغير من ثابت الاتزان للتفاعل، كما أنه لا يستهلك أو يتغير بواسطة التفاعل. وترجع قدره الانزيمات على تعجيل سرعة التفاعل إلى زيادة التركيز الموضعى للمواد الخاضعة عند مركز الحفز، وكذلك حفظ الذرات فى التوجيه المناسب لاتمام التفاعل، مع ذلك فإن التأثير الاكثر أهميه هو خفض طاقة التنشيط للتفاعل.

فالتفاعل الكيميائى، $S \rightleftharpoons P$ ، يمر خلال حالة انتقاليه (S*) transition state لها طاقة أعلى من S و P. ومعدّل التفاعل فى الاتجاه الأمامى (أى تحول S إلى P)، يعتمد على درجة الحراره وعلى الفرق فى الطاقة الحره بين S والحاله الانتقاليه S* والتى يطلق عليها الطاقة الحره للتنشيط ويرمز لها $\Delta G^{\ddagger}$ (شكل ٧ ـ ٦).



شكل ٧ ـ ٦

(أ) تعريف الطاقه الحره للتنشيط ($\Delta G^{\ddagger}$)

(ب) الانزيمات تعجل سرعه التفاعل بخفض الطاقه الحره للتنشيط

$$\Delta G^{\ddagger} = G_S^* - G_S$$

تتناسب سرعه التفاعل طرديـا مع عدد الجزيئات التى تكون طـاقتها مساويه أو اكبر من $\Delta G^{\ddagger}$ ، ويزداد عدد الجزيئات التى تكون طاقتها الحره مساويه أو أكبر من $\Delta G^{\ddagger}$ بارتفاع درجة الحراره.

تعجل الانزيمات من سرعه التفاعلات وذلك بخفض الطاقة الحره للتنشيط $\Delta G^{\ddagger}$، أى حاجز التنشيط أو الحاجز الحركى. فاتحاد الماده الخاضعة مع الانزيم ينشئ مسار تفاعل جديد الذى تكون فيه طاقه الحاله الانتقاليه أقل مما لو أجرى التفاعل بدون الانزيم (شكل ٧ ـ ٦).

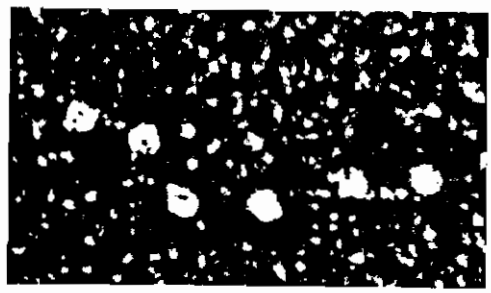
تكوين معقد الانزيم ـ المادة الخاضعة هو الخطوة الأولى فى الحفز الانزيمى

يسبق تكوين وتفكك الروابط الكيميائية بواسطة الانزيم اتحاد الماده الخاضعة S مع الانزيم E لتكوين معقد من الانزيم والماده الخاضعة ES، حيث ترتبط الماده الخاضعة بمنطقة متخصصه على الإنزيم يطلق عليها المركز النشط active center أو الموضع الفعّال. ولمعظم الانزيمات درجة إنتقائية عاليه فى ربط المواد الخاضعة. ومن الثابت أن تخصص الانزيمات يعتمد إلى حد كبير على التخصص الذى تظهره اثناء عمليه الربط، إضافه إلى ذلك فإن التحكم فى النشاط الانزيمى ربما يتحدد أيضا عند هذه المرحلة.

أمكن اثبات وجود معقد الإنزيم والماده الخاضعه ES بعده طرق منها :

١ ـ امكن مشاهده المعقد ES مباشره فى بعض الحالات بواسطه المجهر الالكترونى والتصوير بالأشعه السينيه. فعلى سبيل المثال أمكن مشاهده معقدات الأحماض النوويه وانزيمات البلمره polymerase الخاصه بها بواسطه التصوير بالمجهر الاكترونى (شكل ٧ ـ ٧). امكن أيضا الحصول على معلومات مفصّله تتعلق بموقع والتأثير المتبادل بين جليسيل ـ L ـ تيروزين glycyl - L - tyrosine، وهى الماده الخاضعه لانزيم carboxypeptidase A، من دراسات الأشعه السينية للمعقد ES.

٢ ـ من التغير فى الصفات الطبيعيه للانزيم مثل الذوبانيه والثبات الحرارى التى تتغير عاده بتكوين المعقد ES .



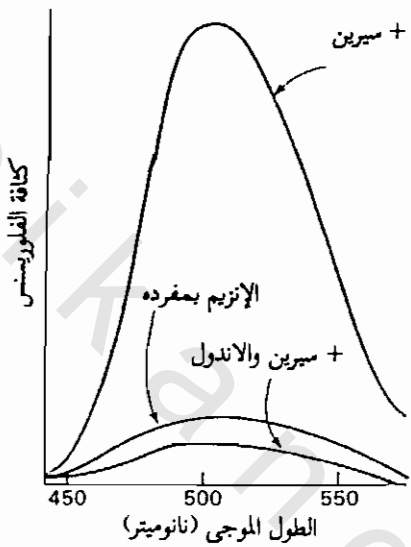
شكل ٧ ـ ٧

صوره بالمجهر الالكترونى لانزيم DNA Polymerase I (الكرات البيضاء) المرتبط بخيط DNA القالب

٣ ـ من الصفات الطيفيه للانزيمات والمواد الخاضعه التى تتغير فى عديد من الحالات بتكوين المعقد ES. مثال ذلك يتغير طيف الامتصاص لـ دى أوكسى هيموجلوبين deoxyhemoglobin بدرجة كبيره عند ارتباطه بالاكسجين، أو عندما يتأكسد إلى حاله الحديديك. وتكون هذه التغيرات واضحة جداً خاصة إذا احتوى الانزيم على مجموعة تعويضيه مرتبطه Prosthetic group ملوّنه. وبالامكان أخذ انزيم tryptophan synthetase ، وهو أحد الانزيمات البكتيرية، والذى يحتوى على بايريدوكسال فوسفات pyridoxal phosphate كمجموعه تعويضيه مرتبطه، كمثال واضح لذلك. يحفز هذا الانزيم بناء التربتوفان من L-سيرين والاندول، وعند اضافه L ـ سيرين إلى الانزيم يحدث زياده كبيره فى طيف الفلوريسنس fluoresence الخاص بمجموعه بايريدوكسال فوسفات (شكل ٧ ـ ٨). ثم ان الاضافة التالية للاندول، وهو الماده الخاضعه الثانيه، يكبت quenche هذا الفلوريسنس إلى مستوى أقل من مستوى الانزيم بمفرده. وعلى ذلك فان طيف الفلوريسنس يشير إلى وجود المعقد انزيم ـ سيرين والمعقد إنزيم ـ سيرين ـ اندول. وبالامكان اثبات وجود المعقد ES أيضا باستخدام طرق طيفيه أخرى مثل الرنين النووى المغناطيسى أو الرنين الالكترونى المغناطيسى.

٤ ـ بالامكان أحيانا فصل المعقدات ES بصوره نقيه. ففى حاله الانزيم الذى يحفز

التفاعل $S_1 + S_2 \rightarrow P$، فإنه بالامكان أحيانا فصل المعقد ES_1، خاصه اذا كان للانزيم الفه عاليه تجاه المركب S_1، وكان المركب S_2 غير موجود فى وسط التفاعل.



شكل ٧ ـ ٨

كثافة طيف الفلوريسنس لمجموعه بايريدوكسال فوسفات المرتبطه بالمركز النشط لانزيم تريتوفان سنثتيز تتغير باضافه السيرين والاندول، وهى المواد الخاضعه للانزيم

٥ ـ إن فكره تكوين معقد الانزيم ـ الماده الخاضعه قد اقترحت فى بدايه هذا القرن من دراسه النشاط الانزيمى فى وجود تركيزات متزايده من الماده الخاضعه. فقد لوحظ انه فى وجود تركيز ثابت من الانزيم فإن سرعه التفاعل تزداد بزياده الماده الخاضعه حتى تصل سرعه التفاعل إلى سرعه قصوى maximum velocity ثابته (شكل ٧ ـ ٩). وعلى العكس من ذلك، لاتظهر التفاعلات التى لا تشارك فيها الانزيمات هذا النوع من تأثير التشبع saturation effect. وفى عام ١٩١٣ فسر ليونار ميكيلس L. Michaelis ظاهره وجود السرعه القصوى للتفاعلات التى تشارك فيها الانزيمات من خلال تكوين المعقد ES. فعند التركيزات العاليه من الماده الخاضعه

تتشبع مراكز الحفز فى الانزيم، وبهذا تصل سرعه التفاعل إلى السرعه القصوى. وهذه هى أقدم وأعم اثبات لوجود معقد الانزيم ـ الماده الخاضعه ES.

شكل ٧ ـ ٩

سرعة التفاعل المحفز انزيميا كداله فى تركيز الماده الخاضعه.

بعض خواص المركز الفعّال أو النشط للإنزيم

المركز الفعّال أو النشط للإنزيم هو الموضع الذى يرتبط بالماده الخاضعه (وكذلك المجموعه التعويضيه prosthetic group إن وجدت)، كما أنه يحتوى أيضا على المجموعات الكيميائية الفعّاله التى تساهم فى تكوين وتفكيك الروابط والتى تُعرَّف بمجموعات الحفز. وبالرغم من الإختلاف الكبير فى تركيب الانزيمات وتخصصها وطريقه عملها، إلاّ أن المراكز الفعاله فيها تشترك فى بعض الخواص العامة التالية:ـ

١ ـ يحتل المركز الفعّال حيزاً صغيراً نسبياً من الحجم الكلى للإنزيم، إذ لا تكون معظم الأحماض الأمينية المكونه للإنزيم متماسه مع الماده الخاضعه. ومن هنا يأتى السؤال المحير لماذا يكون جزئ الإنزيم كبيراً إلى هذا الحد بينما عمليه الحفز تتم على جزء صغير منه؟.

٢ ـ المركز الفعال عبارة عن كيان مجسم ثلاثى الأبعاد، وعاده ما يتكّون من أحماض أمينية آتية من مواضع مختلفه فى سلسلة عديد الببتيد. فمثلا لو أخذنا الإنزيم المسمى لايسوزيم lyozyme المكون من ١٢٩ حمض أمينى، فإن المجاميع الكيميائية المساهمة فى المركز الفعال تتأتى من الأحماض الأمينية التى أرقامها ٣٥ و ٥٢ و ٦٢ و ٦٣ و ١٠١.

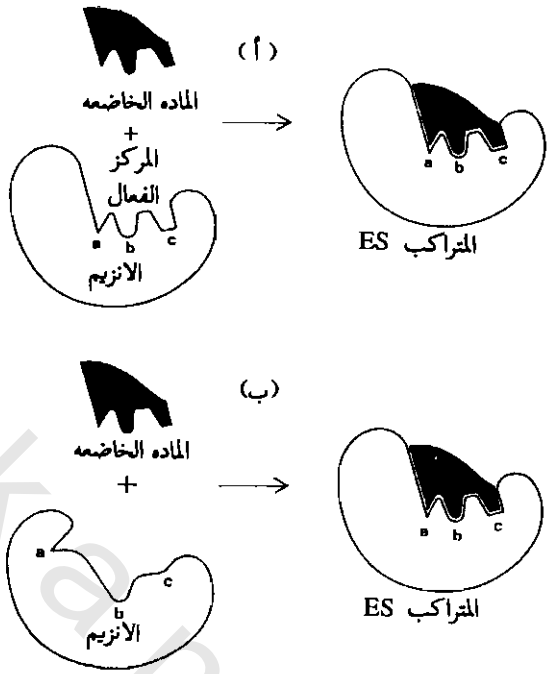
٣ ـ ترتبط المواد الخاضعة بالإنزيمات بواسطه قوى ضعيفه نسبياً. والتى تقابل قيم الطاقات الحره لتكوين المتراكب والتى تتراوح بين ـ٣ إلى ـ١٢ كيلو سعر/ مول. هذا بالمقارنه بقوه الرابطه التساهميه التى تتراوح بين ـ٥٠ إلى ـ١١٠ كيلو سعر/ مول.

٤ ـ المراكز النشطة عباره عن شقوق clefts. ففى معظم الانزيمات المعروفه التراكيب حتى الآن، فإن جزيئات الماده الخاضعه ترتبط بهذه الشقوق أو الفجوات التى يستبعد منها جزيئات الماء، ما لم يكن الماء أحد المواد المتفاعله. يحتوى الشق أيضا على عده مجموعات قطبيه التى تكون ضرورية لربط المواد الخاضعه وكذلك لعمليه الحفز، بالإضافه إلى ذلك فإن الشق ينشئ ظروف بيئية محدوده والتى فيها تكتسب المجموعات القطبية خواص مميزه تكون أساسيه لدورها الحفزى.

٥ ـ يعتمد تخصص الإنزيم فى ربط الماده الخاضعه على التوافق الشكلى بين الماده الخاضعه والمركز الفعّال للإنزيم. فالماده الخاضعه يجب أن يكون لها شكل مطابق أو متمم للمركز الفعال. ويمكن تشبيه العلاقه بين الماده الخاضعه والمركز النشط فى الإنزيم كعلاقه المفتاح والقفل (شكل ٧ ـ ١٠). إلا أن الابحاث الحديثه تشير إلى أن المركز الفعال فى الإنزيم يصبح متمما لشكل الماده الخاضعه فقط بعد إرتباط الماده الخاضعه، وإن هذه العمليه عباره عن عمليه تعرُّف أو تحسس حركية والتى يطلق عليها التوافق المستحث Induced Fit (شكل ٧ ـ ١٠).

تحليل ميكيلس ـ مينتين لحركيات الإنزيم

يتغير معدّل الحفز أو سرعه التفاعل (V) لعدد كبير من الإنزيمات مع تركيز الماده



شكل ٧ ـ ١٠

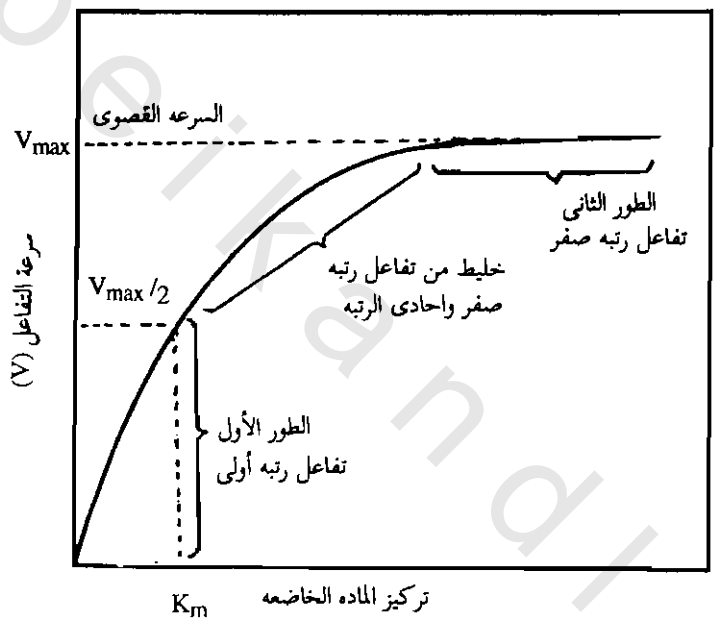
(أ) نموذج القفل والمفتاح للتداخل بين الإنزيم والماده الخاضعه. يكمل المركز الفعال فى شكله للماده الخاضعه.

(ب) نموذج التوافق المستحث للتداخل بين الانزيم والماده الخاضعه. يُغيِّر الانزيم من شكله عند ارتباط الماده الخاضعه، ويصبح للمركز الفعّال شكلا مكملا لشكل الماده الخاضعة فقط بعد عمليه الإرتباط.

الخاضعه [S] بطريقة مماثله لتلك الموضحة فى شكل (٧ ـ ٩). فعند إستخدام تركيز ثابت من الإنزيم فإن زيادة تركيز الماده الخاضعه يؤدى فى البدايه إلى زيادة ملحوظه فى سرعه التفاعل. وبزياده تركيز الماده الخاضعه تزداد سرعه التفاعل ولكن ببطئ. واخيراً عند وصول تركيز الماده الخاضعه إلى تركيز التشبُّع، نلاحظ عدم حدوث أى زيادة فى سرعه التفاعل.

أوضح ميكيلس وغيره فى بدايه هذا القرن أن التفاعلات الإنزيمية التى تتباين فيها تركيزات الماده الخاضعه تكون ثنائية الطور، ففى الطور الأول عندما يكون تركيز الماده

الخاضعه منخفضا تكون المراكز الفعالة على الإنزيم غير مشبعة، بناءً على ذلك فإن سرعة عمل الإنزيم لا تكون فى حالتها القصوى. أماً فى الطور الثانى، أى عندما يكون تركيز الماده الخاضعه عاليا، فإن جميع المراكز الفعاله على الإنزيم تكون مشبعه بتلك الماده، وحيئذ يعمل الإنزيم على الطاقة القصوى وتكون سرعه التفاعل مستقلة عن تركيز الماده الخاضعه (شكل ٧ ـ ١١).



شكل ٧ ـ ١١

تأثير تركيز الماده الخاضعه على سرعة التفاعل، عندما يكون تركيز الإنزيم ثابتا.

وقد وضع ميكيلس Michaelis ومنتين Menten معادله رياضيه توضح العلاقه الكمية بين سرعه التفاعل الذى يشارك فيه الإنزيم كعامل حفّاز وتركيز الماده الخاضعه ـ والمعادله هى:

$$V = \frac{V_{max}\,[S]}{K_m + [S]} \qquad (١)$$

حيث

V = سرعه التفاعل عند تركيز الماده الخاضعه [S]

[S] = تركيز الماده الخاضعه التى يعمل عليها الإنزيم

K_m = ثابت ميكيلس Michaelis cpnstant

V_{max} = السرعه القصوى للتفاعل عند التركيزات العاليه للماده التى يعمل عليها الإنزيم. وتُشتق المعادله أعلاه كما يلى:ـ

١ ـ فى التفاعلات النموذجية التى يشارك فيها الإنزيم كعامل حفّاز يتكون المعقد ES من الإنزيم والماده التى يعمل عليها الإنزيم. إن هذا المعقد إمّا أن يتحلل ليعطى الإنزيم E وناتج التفاعل P، أو أن ES يتحلل عكسياً ليُعطى E و S، كما هو موضح فى المعادله التالية

$$E + S \underset{K_2}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{K_4}{\overset{K_3}{\rightleftharpoons}} E + P \qquad (٢)$$

وتمثّل كل من K_1، K_2 ، K_3 و K_4 ثوابت سرعه التفاعل كما مبين فى المعادله.

٢ ـ بعد خلط الإنزيم E والماده الخاضعه S بوقت قصير جداً يقدر بأجزاء من الألف فى الثانيه فإن المعقد ES سوق يتكون ولا يتغير تركيزه طالما يوجد هناك تركيزات عاليه من S، وإن $K_3 \gg K_1$. وتسمى هذه الحاله بالحاله المستقره steady state، حيث أن سرعه تحلل ES تساوى بالضبط سرعه تكوينه. وإذا أخذنا بنظر الإعتبار الحاله الأخيره أى أن سرعه تحلل وتكوُّن ES تكونان متساويتان فبالإمكان توضيح ذلك بما يلى:

سرعه تحلل ES = سرعه تكون ES، أى

$$K_1 [E] [S] + K_4 [E] [P] = K_2 [ES] + K_3 [ES] \qquad (٣)$$

$$E (K_1 [S] + K_4 [P]) = [ES] + (K_2 + K_3) \qquad (٤)$$

$$\frac{[ES]}{[E]} = \frac{K_1 [S] + K_4 [P]}{(K_2 + K_3)}$$

$$\frac{[ES]}{[E]} = \frac{K_1\ [S]}{(K_2 + K_3)} + \frac{K_4\ [P]}{(K_2 + K_3)} \qquad (٥)$$

٣ ـ يمكننا تبسيط المعادله الأخيرة إذا أخذنا بعين الإعتبار أنه فى بدايه التفاعل تكون كميه P قليله جداً وعليه تكون سرعه تكوين ES من E + P ضئيلة جداً، وبإمكاننا تجاهل التعبير $K_4 [P] / (K_2 + K_3)$ ، بذلك تختزل المعادله السابقة إلى

$$\frac{[ES]}{[E]} = \frac{K_1\ [S]}{K_2 + K_3} \qquad (٦)$$

بالإمكان دمج الثوابت الثلاثة K_1، K_2، K_3 فى ثابت واحد وهو K_m (ثابت ميكيلس) الذى يُعرّف بالعلاقه التالية

$$K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1} \qquad (٧)$$

بعد ذلك تبسط المعادله (٦) إلى

$$\frac{[E]}{[ES]} = \frac{K_m}{[S]} \qquad (٨)$$

٤ ـ تركيز الإنزيم الحر [E] عباره عن $[E] = [E]_t - [ES]$ حيث تُمثل $[E]_t$ تركيز الإنزيم الكلى والذى يشمل الإنزيم الحر زائد الجزء من الإنزيم الذى كوّن المعقد ES

$$\frac{[E]}{[ES]} = \frac{[E]_t - [ES]}{[ES]} = \frac{[E]_t}{[ES]} - 1$$

$$\frac{[E]_t}{[ES]} - 1 = \frac{K_m}{[S]}$$

$$\frac{[E]_t}{[ES]} = \frac{K_m}{[S]} + 1 \qquad (٩)$$

ولما كانت الحدود فى المعادله الأخيره ليست سهله التقدير بالطرق الموجوده لدينا، علينا أن نلجأ إلى العلاقه:

إن السرعه القصوى للتفاعل V_{max} تتناسب طرديا مع التركيز الكلى للإنزيم ـ أى أن

$$V_{max} \alpha [E]_t \qquad (١٠)$$

كذلك فإن السرعه الإبتدائية للتفاعل V تتناسب طرديا مع الإنزيم الموجود فى المتراكب ES أى $V \alpha [ES]$

بناء على ذلك فإن

$$\frac{V_{max}}{V} \alpha \frac{[E]t}{[ES]}$$

وبالاستعاضة عن $[ES] / [E]_t$ بـ V_{max} / V فى المعادلة ٩ نحصل على

$$\frac{V_{max}}{V} \doteq \frac{Km}{[S]} + 1 \qquad (١١)$$

وبتحوير المعادله الأخيره نحصل على المعادله التالية

$$V = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]} \qquad (١٢)$$

وهذه المعادله الأخيره هى فى الحقيقة معادله ميكيلس ـ مينتون، وهى تعبير للمعلومات الحركية الموضحه فى شكل (٧ ـ ١١). فعند تركيز منخفض من الماده الخاضعه، حيث تكون [S] أقل بكثير من K_m، فإن $V = [S]\ V_{max} / K_m$. أى أن سرعه التفاعل تتناسب مباشره مع تركيز الماده الخاضعه. وعند وجود تركيزات مرتفعه من الماده الخاضعه، حيث تكون [S] اكبر بكثير من K_m فإن $V = V_{max}$، أى أن السرعه تكون أقصاها ومستقله عن تركيز الماده الخاضعه. معنى K_m واضح من معادله (١٢)

فعندما يكون $[S] = K_m$ فإن $V = V_{max} / 2$ ، أى أن K_m هو تركيز الماده الخاضعه الذى يُعطى نصف السرعه القصوى للإنزيم.

السرعه القصوى (V_{max}) وثابت ميكيلس (K_m) يمكن تقديرهما بإستخدام تركيزات مختلفه من ماده التفاعل (الماده الخاضعة)

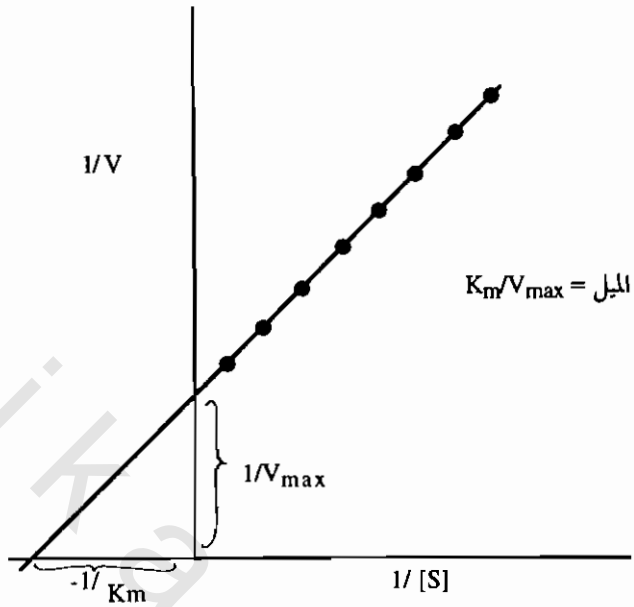
من الواضح أنه بالإمكان تقدير كل من ثابت ميكيلس K_m والسرعه القصوى V_{max} من معدّل الحفز على تركيزات مختلفه من الماده الخاضعه، وذلك على إفتراض أن الإنزيم يتبع حركيات ميكيلس ـ منتين (معادله ١٢). فى هذه الحاله يكون من الضرورى تحويل معادله ميكيلس ـ مينتين إلى معادله خط مستقيم. ويتم ذلك بأخذ مقلوب طرفى معادله (١٢)

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} \qquad (١٣)$$

فبرسم قيم $1 / V$ مقابل قيم $1 / [S]$ نحصل على خط مستقيم يكون ميله عباره عن K_m / V_{max} ، كما تكون نقطه تقاطع هذا الخط مع محور $1 / V$ مساوياً لـ $1 / V_{max}$ (شكل ٧ ـ ١٢). تُعرف هذه الطريقة برسم المقلوب المزدوج double - reciprocal أو رسم لينويفر ـ بورك lineweaver - Burk Plot .

دلاله قيم K_m و V_{max}

العناصر الأساسية فى معادله ميكيلس ـ مينتين هما K_m و V_{max}. تختلف قيم K_m بالنسبه للإنزيمات إختلافا كبيراً فتتراوح K_m لمعظم الإنزيمات بيم $١٠^{-١}$ إلى $١٠^{-٦}$ مول (جدول ٧ ـ ٢)، وتعتمد قيمة K_m لإنزيم ما على الماده الخاضعه المستخدمه وعلى ظروف التفاعل من درجة الحراره والقوة والأيونية. لثابت ميكيلس K_m دلالتان: الأول، عباره عن تركيز الماده الخاضعه التى تعطى نصف السرعه القصوى للأنزيم، أى



شكل ٧ ـ ١٢

رسم المقلوب المزدوج لحركيات الانزيم

تركيز الماده الخاضعه التى تملأ نصف المراكز الفعاله. وبذلك يمكن حساب الجزء من المراكز المشغولة (F_{ES}) عند أى تركيز من الماده الخاضعه من المعادله التاليه:

$$F_{ES} = \frac{V}{V_{max}} = \frac{[S]}{[S] + K_m} \qquad (١٤)$$

وثانيا، فإن لقيم K_m علاقة بثوابت السرعه فى كل خطوة من خطوات التفاعل الموضحة فى معادله (٢). ففى معادله (٧) نجد أن K_m تساوى $(K_2 + K_3)/K_1$. فإذا اخذنا الحالة المحددة التى تكون فيها K_2 أكبر بكثير من K_3، فإن ذلك يعنى أن تحلل ES إلى E و S أسرع بكثير من تكوين E و P وتحت هذه الظروف فإن

$$K_m = \frac{K_2}{K_1} \qquad (١٥)$$

جدول ٧ ـ ٢

قيم K_m لبعض الإنزيمات

الانزيم	المادة الخاضعة	ثابت ميكيلس K_m (M)
كاتاليز Catalase	H_2O_2	$٢,٥ \times ١٠^{-٢}$
هكسوكينز (المخ) Hexokinase	D ـ جلوكوز	٥×١٠^{-٥}
	D ـ فركتوز	$١,٥ \times ١٠^{-٣}$
بيتا جالاكتوسيديز β - Galactosidase	D ـ لاكتوز	٤×١٠^{-٣}
لايسوزيم Lysozyme	hexa - N - acetylglucose amine	٦×١٠^{-٦}
بيروفات كربوكسيليز Pyruvate carboxylase	بيروفات	٤×١٠^{-٤}

وثابت التفكك للمعقد ES يعطى بالعلاقة التالية

$$K_{ES} = \frac{[E]\ [S]}{[ES]} = \frac{K_2}{K_1} \qquad (١٦)$$

بعبارة أخرى فإن K_m فى هذه الحالة يكون مساويا لثابت التحلل للمعقد ES فى حالة كون K_3 أصغر بكثير من K_2. تحت ظروف كهذه تكون قيمة K_m عباره عن مقياس لقوة المعقد ES . إذ تعنى القيمة المرتفعة لـ K_m إرتباط ضعيف، أى أن الألفه بين الإنزيم والماده الخاضعه تكون ضعيفه، بالمقابل تعنى القيمة المنخفضة من K_m إرتباط قوى أى أن الالفه بين الإنزيم والماده الخاضعه تكون قوية.

تعطى السرعه القصوى V_{max} فكرة واضحة عن رقم التحول turnover number لإنزيم ما، وذلك إذا عرف تركيز المراكز الفعّاله أو التركيز الكلى للإنزيم $[E]_t$ وذلك لأن

$$V_{max} = K_3\ [E]_t \qquad (١٧)$$

ويطلق على الثابت K_3 برقم التحول، ويعرف رقم التحول لإنزيم ما بأنه عدد جزيئات المادة الخاضعه المتحوله إلى ناتج تفاعل فى وحده الزمن عندما يكون الإنزيم مشبعاً بصورة

كاملة بالماده الخاضعه. وتقع أرقام التحول لمعظم الإنزيمات مع المواد الخاضعه الفسيولوجية بين ١ إلى $١٠^{٤}$ جزئ/ ثانية (جدول ٧ ـ ٣).

جدول ٧ ـ ٢

قيم K_m لبعض الإنزيمات

الانزيم	رقم التحوُّل (جزئ/ ثانية)
كاربونيك انهيدريز Carbonic anhydrase	٦×١٠^{٥}
اسيتايل كولين استرير Acctylcholinestrase	$٢,٥ \times ١٠^{٤}$
لاكتات ديهيدروجنيز Lactate dehydrogenasc	١×١٠^{٣}
كايموتريسين Chymotrypsine	١٠٠
تربتوفان سنثتيز Tryptophan sunthetase	٢

عدد كبير من الإنزيمات تحفز تفاعلات لمادتين أو أكثر

غالبا ما يحفز عدد كبير من الإنزيمات تفاعلات لمادتين مختلفتين (وأحيانا ثلاثة)، لتعطى واحداً أو إثنين أو ثلاثة من نواتج التفاعل. فمثلا إنزيم هكسوكينيز يحفز نقل مجموعة فوسفات من ATP إلى الجلوكوز، أما ناتج التفاعل فهو ADP وجلوكوز ٦ فوسفات.

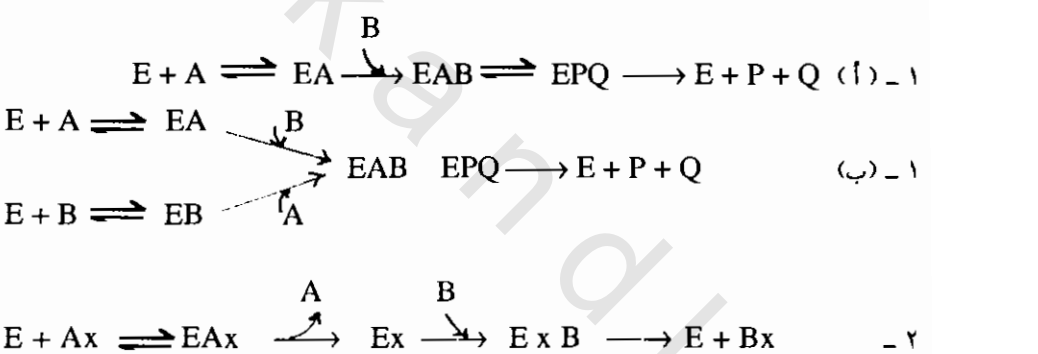
$$ATP + Glucose \rightarrow ADP + glucose - 6 - phosphate$$

وسرعة مثل هذه التفاعلات يمكن معالجتها أيضا بحركيات ميكيلس ـ مينتين.

التفاعلات الإنزيمية التى يشترك فيها مادتين خاضعتين غالبا ما تشمل نقل ذرة أو

obeikandl.com

مجموعة كيميائية من أحد المواد إلى المادة الخاضعه الأخرى، أو ربط جزيئين مع بعضهما. مثل هذه التفاعلات تتم بواحد من المسارين الموضحين فى شكل (٧ ـ ١٣). فى النوع الأول والذى يُدعى تفاعل الإزاحة الفردى، فإن المادتين الخاضعتين A و B تتحدان بالإنزيم E أماً بطريقة منتظمة أو عشوائيه لتكوين المتراكب EAB، حيث تتفاعل المادتان الخاضعتان على سطح الإنزيم لتعطيا ناتجًا التفاعل P و Q. فى النوع الآخرى والذى يسمى تفاعل الإزاحة المزدوجة أو Ping - pong، فإن المادتين الخاضعتين لاترتبطان بالإنزيم فى نفس الوقت. فعندما تتحد المادة الخاضعه الأولى Ax مع الإنزيم تنقل مجموعتها الفعّاله x إلى الإنزيم، وبعد خروج ناتج التفاعل الأول A يمكن أن ترتبط المادة الخاضعه الأخرى بالإنزمى حيث تستقبل المجموعه الفعّاله x.



شكل ٧ ـ ١٣

أنواع المسارات للتفاعلات الإنزيمية لمادتين

١ ـ تفاعل الازاحة الفردى:

(أ) تفاعل الازاحة الفردى المنتظم (ب) تفاعل الازاحة الفردى العشوائى

٢ ـ تفاعل الازاحة المزدوج

النشاط الإنزيمى يتميز برقم هيدروجينى أمثل

تكون الإنزيمات نشطه فى مدى محدد من الرقم الهيدروجينى، وفى معظم الحالات يمكن تمييز رقم هيدروجينى أمثل الذى يظهر الإنزيم عنده أقصى نشاط (جدول ٧ ـ ٤). ويرجع تأثير الرقم الهيدروجينى على نشاط الإنزيم بالدرجة الأولى إلى التغير فى

حالة تأين المجموعات الفعّاله فى المركز النشط للإنزيم، وكذلك الماده الخاضعه، ولكن فى معظم الحالات يكون تأثير الرقم الهيدروجينى الأمثل على الإنزيم اكبر من تأثيره على الماده الخاضعه، أى أن الرقم الهيدروجينى الأمثل يخص الإنزيم بدرجة اكبر من الماده الخاضعه. بالإضافة إلى ذلك فإن الحيود الشديد عن الرقم الهيدروجينى الأمثل قد يغير من الهيئة التركيبية أو البناء الثالثى للإنزيم والذى يؤثر على المركز النشط الخاص به.

جدول ٧ ـ ٤

الرقم الهيدروجينى الأمثل لبعض الإنزيمات

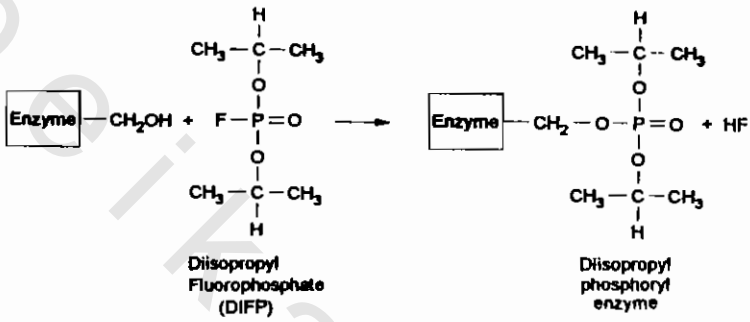
الانزيم	الرقم الهيدروجينى الأمثل
بيبسين Pepsine	١,٥
كاتاليز Catalase	٧,٦
أرجنيز Arginase	٩,٧

الإنزيمات يمكن تثبيطها بواسطة جزيئات متخصصة

تثبيط النشاط الإنزيمى بواسطة الجزيئات الصغيرة أو الأيونات له أهمية كبيره لأنه يمثل الميكانيكية الأساسية للسيطرة على نشاط الإنزيمات فى الأنظمة البيولوجية. كما أن عمل العديد من العقاقير والمواد السامة يتم بتثبيطها للإنزيمات. إضافة إلى ذلك فإن دراسة تثبيط الإنزيمات له أهمية كبيرة فى التعرُّف على ميكانيكية عمل الإنزيمات والتخصص للمادة الخاضعة وطبيعة المجموعات الفعّاله فى المركز النشط.

ويكون تثبيط الإنزيم إمّا عكسياً أو غير عكسى، ففى التثبيط غير العكسى يرتبط المثبط تساهميا بالإنزيم، أو أنه يرتبط بقوة بالإنزيم بحيث يكون إنفصاله من الإنزيم بطيئاً جداً. فمثلا إنزيم acetylcholine estrase ، والذى يلعب دوراً مهماً فى نقل النبضات العصبية، يثبط لا عكسيا بواسطة مركب Diisopropyl fluorophosphate (يختصر إلى DIFP)، فيتفاعل هذا المركب مع أحد جزيئات السيرين الموجوده فى المركز النشط للإنزيم ليكوّن مشتق غير نشط للإنزيم هو diisopropylphosphoryl enzyme (شكل

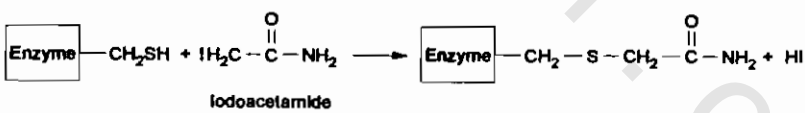
٧ ـ ١٤). ولقد وجد أن لمركب DIFP له تأثير مثبط غير عكسى على عدد آخر من الإنزيمات والتى تشمل trypsin و chemotrypsin و elastase و phosphoglu-comutase. وجميع هذه الإنزيمات تحتوى على سيرين فى مراكزها الفعّاله والذى يشارك فى نشاطها الحفزى.



شكل ٧ ـ ١٤

ثبيط إنزيم acetylcholine estrase بواسطة DIFP

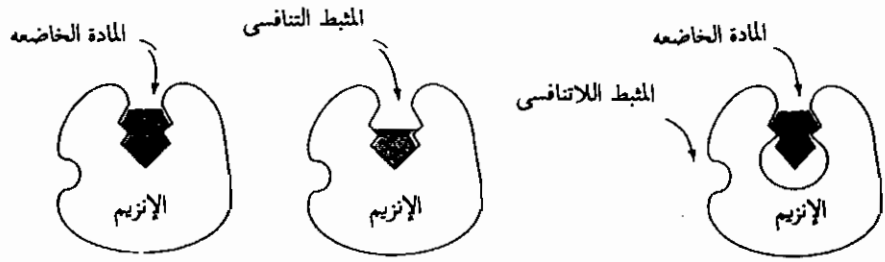
من المثبطات غير العكسية الأخرى مركب أيودو أسيتاميد iodoacetamide الذى يرتبط تساهميا مع مجموعة السلفهيدريل (-SH) لبعض الإنزيمات (شكل ٧ ـ ١٥).



شكل ٧ ـ ١٥

تثبيط الفعالية الإنزيمية بارتباط الأيودو أسيتاميد مع جزئ السستين فى الانزيم

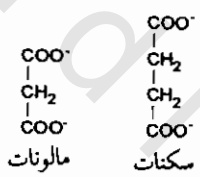
على العكس من ذلك يتميز التثبيط العكسى بالإتزان السريع بين المثبط والإنزيم. ويعتبر التثبيط التنافسى competitive inhibition أبسط أنواع التثبيط العكسى، ويشابه المثبط التنافسى فى تركيبه لتركيب الماده الخاضعه، ويرتبط (أى المثبط التنافسى) بالمركز الفعّال للإنزيم (شكل ٧ ـ ١٦). ويؤدى ذلك إلى منع الماده الخاضعه من الإرتباط بنفس المركز الفعال. ويخفض المثبط التنافسى من سرعه التفاعل الإنزيمى وذلك



٧ ـ ١٦

التمييز بين المثبط التنافسى والمثبط اللاتنافسى. اليسار، معقد الإنزيم والماده الخاضعه، الوسط، المثبط التنافسى يمنع الماده الخاضعه من الإرتباط بالإنزيم. اليمين، لايمنع المثبط اللاتنافسى الماده الخاضعه من الإرتباط بالإنزيم.

بالإقلال من نسبة جزيئات الإنزيم التى ترتبط بها الماده الخاضعه. والمثال النموذجى للتثبيط التنافسى هو تأثير المالونات malonate على إنزيم succinate dehydrogenase، وهو الإنزيم الذى ينزع ذرتى هيدروجين من السكسنات.



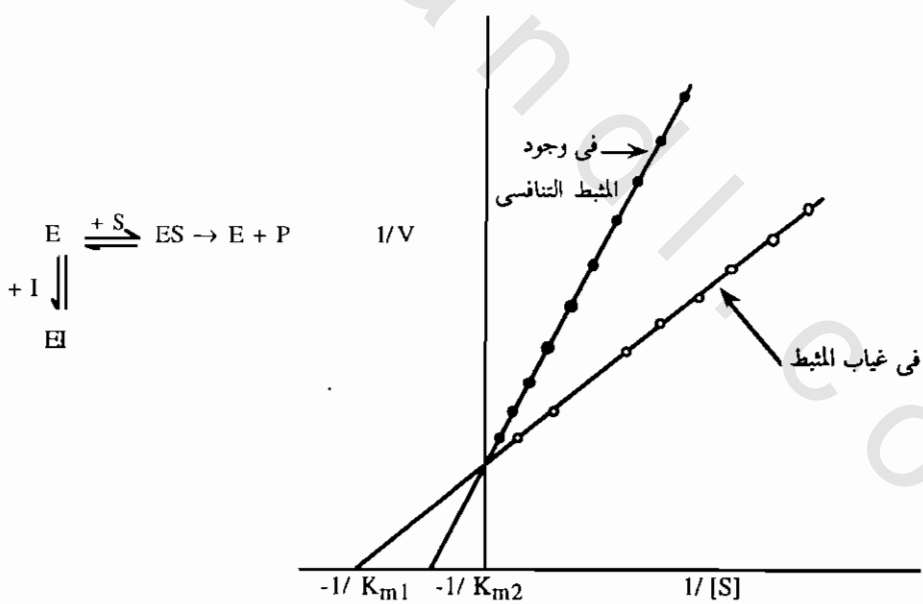
يكون التثبيط اللاتنافسى noncompetitive inhibition عكسيا أيضا، إذ يرتبط المثبط والماده الخاضعه فى نفس الوقت على جزئ الإنزيم، أى أنه لايوجد تداخل بين موضعى إرتباطهما. ويعمل المثبط اللاتنافسى على تقليل رقم التحول للانزيم بدلا من تقليل نسبة جزيئات الإنزيم المرتبطة بالماده الخاضعه. هنالك بعض الحالات الاكثر تعقيداً والناتجة عندما يؤثر المثبط على إرتباط المادة الخاضعه وعلى رقم التحول للإنزيم فى نفس الوقت.

كذلك يمكن أن يثبط النشاط الإنزيمى نتيجة للتداخلات بين المراكز الفعاله الموجوده على الوحدات الفرعيه المختلفه للإنزيمات المركبة. ولهذا النوع من التثبيط، والذى يسمى بالتثبيط الألوستيرى (غير الوضعى) allosteric inhibition أهمية فسيولوجية كبيرة.

يمكن التفرقه بين التثبيط التنافسى واللاتنافسى حركياً

يمكن التمييز بين التثبيط التنافسى واللاتنافسى وذلك بتقدير سرعه التفاعل باستخدام تركيزات مختلفه من المادة الخاضعه والمثبط.

١ ـ التثبيط التنافسى: يحدث التثبيط التنافسى كنتيجة لتنافس كل من الماده الخاضعه والمثبط على الارتباط بالمركز النشط للإنزيم، وبالإمكان التغلب على التثبيط التنافسى بزيادة تركيز الماده الخاضعه فى وسط التفاعل، وتعتمد درجة التثبيط فى هذا النوع على تركيز كل من المثبط والمادة الخاضعه وعلى الألفة النسبية الموجوده بين كل من المثبط والماده الخاضعه على الإرتباط بالمركز الفعّال للإنزيم. زيادة الميل لرسم المقلوب المزدوج فى وجود المثبط يعبر عن قوة إرتباط المثبط التنافسى بالإنزيم. فى التثبيط التنافسى تتغير قيمة K_m لكن لا تتغير السرعه القصوى (شكل ٧ ـ ١٧)



شكل ٧ ـ ١٧

رسم المقلوب المزدوج للعلاقة بين السرعة الأولية وتركيز الماده الخاضعه فى وجود وفى عدم وجود المثبط التنافسى.

وفى وجود المثبط التنافسى فإن معادله ١٣ تصبح كالآتى

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)\left(\frac{1}{[S]}\right) \qquad (١٨)$$

حيث [I] هى تركيز المثبط، و K_i هى ثابت التفكك لمعقد الإنزيم ـ المثبط.

$$E + I \rightleftharpoons EI$$

$$K_i = \frac{[E]\ [I]}{[EI]} \qquad (١٩)$$

وبكلمات أخرى، فإن ميل الخط يزيد بعامل $(1 + [I] / K_i)$ فى وجود المثبط التنافسى.

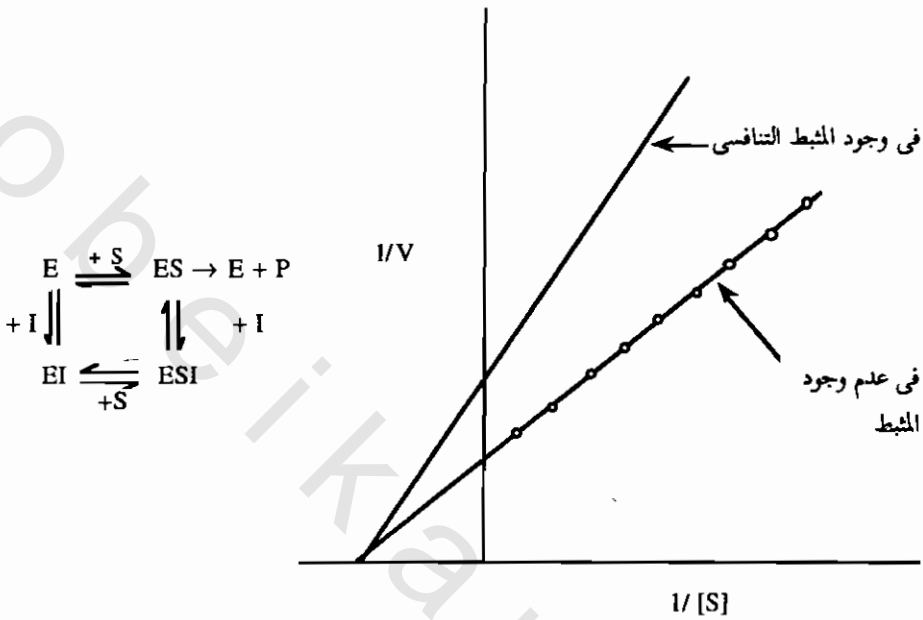
٢ ـ التثبط اللاتنافسى : لا يمكن التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز المادة الخاضعة، إذ يرتبط المثبط بصورة غير عكسية بموقع ما على سطح الإنزيم، ولايمكن إزاله المثبط من موقعه بزياده الماده الخاضعه. ويعتمد التثبيط اللاتنافسى على تركيز المثبط والألفه الموجوده بين المثبط والإنزيم، وتبقى قيمة K_m ثابتة ولا تتغير فى هذا النوع من المثبط، بينما لا تصل سرعه التفاعل إلى السرعه القصوى (شكل ٧ ـ ١٨).

وفى وجود المثبط اللاتنافسى فإن الميل الذى يساوى K_m / V^I_{max} يزيد بنفس العامل. والسرعة القصوى فى وجود المثبط اللاتنافسى V^I_{max} تعطى بالعلاقة التالية

$$V^I_{max} = \frac{V_{max}}{1 + [I] / K_i} \qquad (٢٠)$$

أنظمة الإنزيمات المركبه تساعد فى زيادة معدل التفاعلات الخلوية

تعتبر كفاءة الإنزيمات فى تعجيل التفاعلات البيوكيميائية وتنظيمها فى الخلية من أساسيات المحافظة على الحياه. ويمكن توضيح معدّل التحولات الكيميائية إذا أُخذ فى



شكل ٧ ـ ١٨

رسم المقلوب المزدوج للعلاقة بين السرعة الأولية وتركيز الماده الخاضعه فى وجود وفى عدم وجود المثبط التنافسى.

الإعتبار أن خلية الثديات النموذجية تفكك وتستعوض كل جزيئات ATP فيها خلال دقيقة واحدة أو دقيقتين، وهذا يمثل إستهلاك حوالى $١٠^{٧}$ جزئ ATP بواسطة الخليه كل ثانيه (أو واحد جرام لجسم الإنسان كل دقيقة).

وبالرغم من أن معدّل التفاعلات الخلويه سريعه جداً بسبب الحفز الإنزيمى، فإن هناك بعض الإنزيمات المهمه تعمل بأقصى كفاءة بحيث أن زيادة كفاءتها عن ذلك تكون بدون تأثير لأن الخطوه المحدده لمعدل التفاعل تكون خطوه تصادم الإنزيم مع الماده الخاضعه، أى أن معدل التفاعل يصبح مقيداً بالإنتشار diffusion limited . وفى حالة ما يكون التفاعل مقيداً بالإنتشار، فإن معدل التفاعل سوف يعتمد على تركيز كل من الإنزيم والماده الخاضعه. لذلك فإنه لكى تتم سلسلة من التفاعلات بمعدل سريع فإن

الإنزيمات المشتركة فى هذا التحول والمواد والوسيطة يجب أن تكون موجوده بتركيز مرتفع. وإذا نظرنا إلى الأنواع العديدة من التفاعلات التى تتم فى الخليه، نجد أن هناك حدوداً تفرض على تركيز المواد الخاضعه فى الخليه. وفى الحقيقة فإن معظم الأيضات metabolites توجد فى الخلايا بتركيز ميكرومولر، وتركيز معظم الإنزيمات يكون أقل من ذلك . كيف يمكن إذن الوصول إلى معدّلات تفاعل كبيرة ؟.

إن الإجابه على هذا السؤال تكمن فى تنظيم العناصر الخلوية، فيمكن زيادة معدّل التفاعلات بدون زيادة تركيز المواد المتفاعله وذلك بتجميع الإنزيمات المختلفه المشتملة فى سلسلة من التفاعلات فى نظام إنزيمى مركب multienzyme system. فى مثل هذه الأنظمة الإنزيمية ينتقل ناتج حفز الإنزيم الأول مباشرة إلى الإنزيم التالى وهكذا حتى الناتج النهائى (شكل ٧ ـ ١٩). وهذا التنظيم يسمح بالوصول إلى معدّلات تفاعل كبيره وذلك بالتغلب على حدود الانتشار ، وتركيز المواد الخاضعه، وكذلك حماية المركبات الوسيطة من التفاعلات المنافسة.

ناتج سلسلة التفاعلات

شكل ٧ ـ ١٩

مخطط بيانى لنظام إنزيمى مركب يحتوى على أربعة إنزيمات E_1 و E_2 و E_3 و E_4، التى تقوم بتحول المركب A إلى P، وهو ناتج سلسلة التفاعل، فى أربع خطوات محفزة إنزيميا.

تحتوى أنظمة الإنزيمات المركبة على واحد أو أكثر من الإنزيمات الخاضعه للتنظيم تُعرف بالإنزيمات المنظِّمة.

يقوم كل نظام إنزيمى مركّب بتنفيذ سلسلة بناء أو هدم، مثال ذلك تحوُّل الجلوكوز إلى حمض لاكتيك فى العضلات. وفى كل نظام إنزيمى مركب يوجد إنزيم واحد على

الأقل فى السلسلة يخضع نشاطه للتنظيم. وهذه الإنزيمات التى يخضع نشاطها للتنظيم بالتثبيط أو التنشيط بواسطة إشارات جزيئية مختلفة تعرف بالإنزيمات المنظِّمة regulatory enzymes . يوجد قسمان من الإنزيمات المنظِّمة هما الإنزيمات غير الوضعية (الألوستيريه allosteric enzymes) أو الإنزيمات المُنظَّمة بالتداخلات غير التساهمية، أما القسم الثانى يسمى الإنزيمات المُنظَّمة بالتداخلات التساهمية.

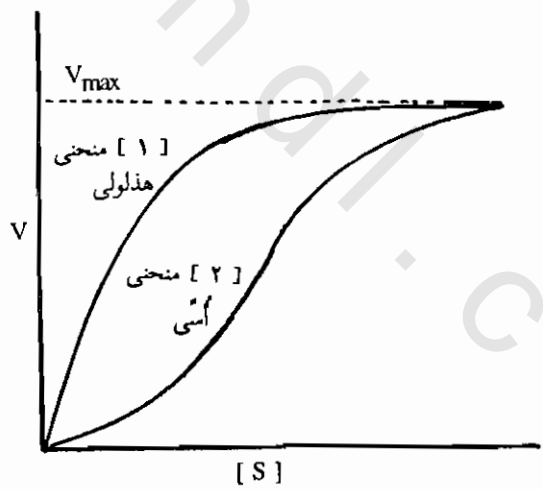
تنظيم الإنزيمات غير الوضعيه يتم بالتداخلات غير التساهمية لمؤثِّرات جزيئية

غالبا ما يحفز الإنزيم غير الوضعى التفاعل الأول فى سلسلة التفاعلات التى يحفزها نظام الإنزيمات المركبة، وهذا الإنزيم يثبط بالناتج النهائى لهذا النظام الإنزيمى. فعند زيادة الناتج النهائى عن إحتياج الخلية فإنه يثبط الإنزيم الأول (الإنزيم الالوستيرى) فى السلسلة وبالتالى ينخفض معدَّل الحفز للسلسلة كلها إلى معدَّل الناتج النهائى الذى تحتاجه الخلية. وهذا النوع من التثبيط يطلق عليه التثبيط بالتغذية المرتدة Feedback inhibition. ويكون هذا النوع من التثبيط عكسياً، فعندما يهبط مستوى ناتج التفاعل إلى حد معين ينشط الإنزيم الالوستيرى ويترتب على ذلك إعادة بناء ناتج التفاعل مرة أخرى. وتثبيط الإنزيم لايتم عن طريق إرتباط المثبط بالمركز الفعال للإنزيم أى مركز إرتباط الماده الخاضعه ولكنه يرتبط بموضع آخر يعرف بالموضع التنظيمى regulatory site، ويكون هذا الإرتباط غير تساهمى والذى يحول الهيئة النشطة للإنزيم إلى هيئة غير نشطة. فى بعض الحالات الأخرى فإن الإنزيم غير الوضعى ينشط بواسطة جزيئات أخرى غير ناتج التفاعل التى تتجمع عندما يهبط مستوى ناتج السلسلة فى الخلية. وهذه الجزيئات الأخيره التى يطلق عليها المؤثِّرات أو المستحثّات الموجبه positive modulators أو المنشطات activators ترتبط أيضا بمركز تنظيمى وتؤدى إلى تغيير فى الهيئة الفراغية مصحوبا بزيادة فى جاذبييه الإنزيم للماده الخاضعه. وفى حالات أخرى يرجع التأثير المنشط لبعض المؤثرات الموجبة إلى فعلها المضاد أو المعاكس للمثبطات. وقد يكون الفعل المعاكس نتيجة لتنافس مباشر بين المثبطات والمستحثّات الموجبه على مكان إرتباط واحد أو نتيجة تأثيرات مضادة على الهيئة الفراغية للإنزيم فى أماكن غير وضعيه مختلفة. وعلى

أيه حال فإن محصلة هذان التأثيران المتضادان (التثبيط والتنشيط) هى زيادة المقدرة على التحكم فى نشاط الإنزيم غير الوضعى.

الإنزيمات غير الوضعية لاتخضع لحركيات ميكيلس ـ مينتين

ساعد نموذج ميكيلس ـ مينتين كثيرا على تطوير كيمياء الإنزيمات، إذا تميّز هذا النموذج ببساطته وإمكانية تطبيقة على عدد كبير من الإنزيمات. إلا أنه يُوجد عدد من الإنزيمات التى لا تخضع لحركيات ـ ميكيلس مينتين ألا وهى الإنزيمات الألوستيريه (غير الوضعية) allosteric enzymes التى تعطى منحنى أسّى sigmoid للعلاقة بين السرعة وتركيز الماده الخاضعه بدلا من المنحنى الهذلولى hyperbolic المميز لنموذج ميكيلس ـ مينتين (شكل ٧ ـ ٢٠). وتتميز الإنزيمات الألوستيريه بأنها تتكون دائما من عدة وحدات فرعية subunits وتحتوى على مركز فعّال ومركز تنظيمى، وغالبا ما تحفز التفاعلات التى تقع فى مناطق التفرع فى مسار الأيض.



شكل ٧ ـ ٢٠

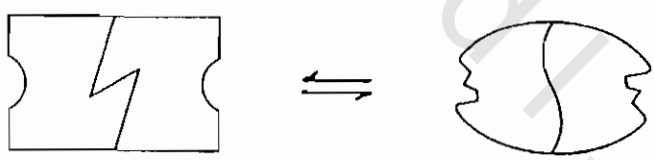
تأثير تركيز الماده الخاضعه على سرعه التفاعل المحفز بـ [١] ـ إنزيم يخضع لحركيات ميكيلس ـ مينتين و [٢] ـ إنزيم ألوستيرى ذو حركيات أسّيه.

إن العنصر الحركى المميز لمعظم الإنزيمات الألوستيريه هو العلاقه بين سرعه التفاعل وتركيز الماده الخاضعه. فمن الملاحظ فى هذه الإنزيمات أن ارتباط أحد جزيئات الماده

الخاضعه بأحد المراكز على الإنزيم يحدث تغيرات تركيبيه وإلكترونيه فى الإنزيم والتى تؤدى إلى زياده ألفه المراكز المجاوره للماده الخاضعه، ويطلق على هذه الظاهره بالارتباط التعاونى cooperative binding والتى تعطى المنحنى الأسّى. ولقد اقترح نموذجان للارتباط التعاونى هما النموذج المتوافق concerted model والنموذج التعاقبى sequential model. وكلا النموذجين إعتمد على ملاحظة أن كل الإنزيمات الالوستيريه تتألف من عده وحدات فرعيه subunits.

النموذج المتوافق للتداخلات الألوستيرية

لنأخذ هذا النموذج ونطبقه على إنزيم ألوستيرى مُألّف من وحدتين فرعيتين متشابهتين لكل منهما موضع فعّال واحد. يفترض النموذج المتوافق أن الإنزيم يوجد فى صورة مخلوط من هيئتين تركيبيتين فى حالة إنزان هما الهيئة المرتخية relaxed (R) form ذات ألفة عالية تجاه المادة الخاضعه والهيئة المشدوده tense (T) form ولها ألفه منخفضة تجاه الماده الخاضعه (شكل ٧ ـ ٢١).



الهيئة المشدودة T form
لها ألفه منخفضة تجاه
الماده الخاضعه

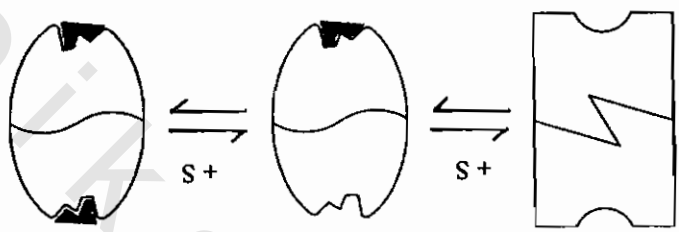
الهيئة المرتخية R form
لها ألفه عالية تجاه المادة
الخاضعه.

شكل ٧ ـ ٢١

مخطط بيانى للهيئتين R و T للإنزيم الألوستيرى

ومن الافتراضات المهمه فى هذا النموذج أنه يجب أن تكون للوحدتين الفرعيتين للإنزيم الألوستيرى نفس الهيئة التركيبية (أى أنه يجب الحفاظ على تجانس الوحدتين). وبناءاً على ذلك توجد الهيئة التركيبية RR والأخرى TT إلا أنه لا توجد الهيئة التركيبية RT . وفى حالة عدم وجود المادة الخاضعه تكون معظم جزيئات الإنزيم فى الهيئة T.

ويؤدى إرتباط الماده الخاضعه بالهيئة التى لها ألفه عاليه (R) إلى تغيير حاله الإتزان فى إتجاه هذه الهيئة (شكل ٧ ـ ٢٢). وعند ارتباط الماده الخاضعه بأحد الوحدتين فإن الوحده الأخرى فى نفس الإنزيم يجب أن تكون فى الهيئة R أيضا طبقا للفرضيات الأساسية فى هذا النموذج. يترتب على ذلك زيادة نسبه جزيئات الإنزيم فى الهيئة R بصورة مستمر بإضافة الماده الخاضعه، وبهذا يكون إرتباط الماده الخاضعه بالإنزيم تعاونيا.



شكل ٧ ـ ٢٢

النموذج المتوافق لارتباط الماده الخاضعه تعاونيا بالانزيم الالوستيرى. تتغير الهيئة TT (ذات الألفة المنخفضة) إلى الهيئة RR (ذات الألفة العالية) عند إرتباط الجزئ الأول من المادة الخاضعه.

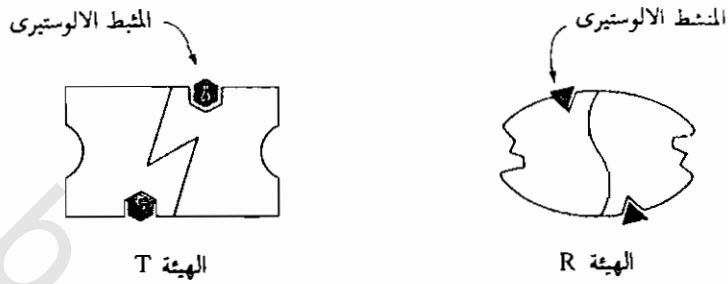
ويمكن فهم تأثيرات المنشطات والمثبطات الألوستيرية من النموذج المتوافق، حيث يفضل المثبط الالوستيرى الارتباط بالهيئة T ، بينما يفضل المنشّط الالوستيرى الارتباط بالهيئة R (شكل ٧ ـ ٢٣). يترتب على ذلك أن يعمل المثبط الالوستيرى على تغيير حاله الإتزان فى إتجاه الهيئة T ، بينما يغير المنشط الالوستيرى حاله الاتزان فى إتجاه الهيئة R.

النموذج التعاقبى للتداخلات الألوستيرية ·

يعتمد هذا النموذج على ثلاثة افتراضات:

١ ـ للإنزيم الالوستيرى هيئتين تركيبتين فقط (المسترخيه R والمشدودة T) لأى وحده فرعية للإنزيم.

٢ ـ يؤدى إرتباط الماده الخاضعه إلى تغيير شكل الوحدة الفرعيه التى يتم فيها الارتباط، ولاتتغير الهيئة التركيبيه لبقيه الوحدات الفرعيه المكونه لجزئ الإنزيم بشكل ملحوظ.

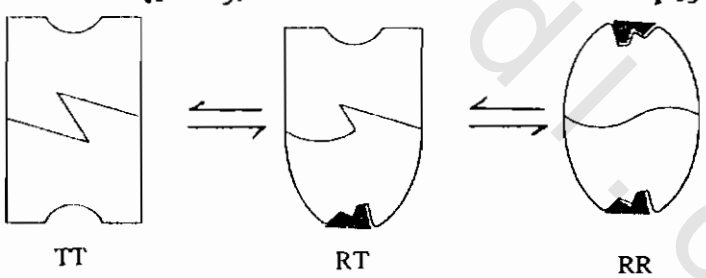


شكل ٧ ـ ٢٣

فى النموذج المتوافق يفضل المثبط الالوستيرى الارتباط بالهيئة T وتزيد من استقرارها، بينما يفضل المنشط الالوستيرى الارتباط بالهيئة R ويزيد من استقرارها.

٣ ـ إن التغير الحاصل فى الهيئة التركيبية فى وحده فرعيه واحده نتيجة لارتباط الماده الخاضعه بها يؤدى إما إلى زيادة أو انخفاض ألفه إرتباط الماده الخاضعه بالوحدات الفرعيه الأخرى فى نفس جزئ الإنزيم.

ويوضح شكل (٧ ـ ٢٤) عملية إرتباط الماده الخاضعه بالإنزيم الالوستيرى. يعتبر الإرتباط تعاونيا إذا كانت ألفه RT تجاه الماده الخاضعة أكبر مما عليها تجاه TT.



شكل ٧ ـ ٢٤

النموذج التعاقبى لارتباط الماده الخاضعه تعاونيا بالإنزيم الالوستيرى. مركز الارتباط غير المشغول فى RT له ألفه أعلى تجاه الماده الخاضعه مقارنه بالمركز الفعال فى TT.

يختلف النموذج التعاقبى عن النموذج التوافقى فى عدة أوجه:

أولا: لايفترض وجود حالة الإتزان بين الهيئة المرتخيه R والهيئة المشدودة T فى النموذج التعاقبى فى حاله عدم وجود الماده الخاضعه، إلا أنه بدلا من ذلك يفترض أن إرتباط الماده الخاضعه يؤدى إلى تحفيز انتقال الهيئة المشدودة T إلى الهيئة المرتخيه R.

ثانيا: إن التغير فى الهيئة التركيبية من المشدودة T إلى المرتخية R يكون تعاقبيا وليس توافقيا وتكون الحالة المختلطة RT هى السائدة بالمقابل لا توجد هذه الحاله فى النموذج التوافقى. وأخيرا فإن التداخلات بين الوحدات الفرعيه تكون بالضرورة موجبة فى النموذج التوافقى لكنها تكون إما موجبه أو سالبه فى النموذج التعاقبى، وبذلك تعتمد شده إرتباط جزئ الماده الخاضعه الثانى على التأثير الذى تركه جزئ الماده الخاضعه الأولى عند ارتباطها بالإنزيم.

وأخيراً يبقى السؤال التالى: أى من النموذجين المذكورين هو الأصح؟. إن الجواب على ذلك كما يلى: يكون النموذج التوافقى مناسبا لبعض البروتينات الالوستيريه، والنموذج التعاقبى مناسبا للبعض الآخر. بالمقابل لاينطبق أى من النموذجين السابقين على بعض البروتينات الالوستيريه الأخرى. ولمثل هذه البروتينات فإن الافتراض بوجود هيئتين (R و T) فقط قد يكون افتراض مقيد. ويحتاج ذلك إلى نماذج أخرى اكثر تعقيداً لتتلاءم مع الخواص الالوستيريه لهذه البروتينات.

الروابط الالكتروستاتيكية والهيدروجينية وڤان دير فالس فى معقدات الإنزيمات والمواد الخاضعه

توجد ثلاثة أنواع مختلفه من القوى التى تساعد فى التداخلات الجزيئية العكسية التى تحدث فى الانظمة البيولوجية. ومن أمثلة التداخلات الجزيئية العكسية فى الأنظمة البيولوجية إرتباط المواد الخاضعة بالإنزيمات، وانطواء folding الجزيئات الكبيره، والتداخلا التى تحدث بين الخلايا ذاتها، وتحتاح كل هذه التداخلات الجزيئية إلى الروابط الالكتروستاتيكية والروابط الهيدروجينية وروابط ڤان ديرفالس. وهذه الروابط غير التساهمية الأساسية الثلاثة تختلف فيما بينها فى التخصص والقوه والاحتياجات الهندسية. إضافة إلى ذلك فإن هذه الروابط تتأثر بطرق مختلفة بوجود الماء الذى يؤثر عليها تأثيرا كبيراً. وسوف نأخذ الآن وبشئ من التفصيل خواص كل رابطة من الروابط الثلاثة المذكوره.

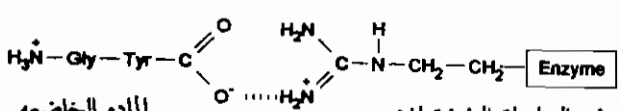
المواد الخاضعه ذات الشحنة الكهربية يمكن أن ترتبط بالمجاميع الكيميائية على الإنزيمات والتى تحمل شحنه مضاده

تتمكن مجموعه كيميائيه حامله للشحنه على الماده الخاضعة من التداخل مع مجموعه حامله لشحنه مضاده على الإنزيم. وقوه (F) مثل هذا التداخل الالكتروستاتيكى تقدر باستخدام قانون كولومب Coulomb,s law

$$F = \frac{q_1 q_2}{r^2 D}$$

حيث تمثل كل من q_1 و q_2 شحنات المجموعتين و r المسافه بينهما و D ثابت الثنائى الكهربى للوسط. ويكون التداخل الالكتروستاتيكى أقصاه فى الفراغ (حيث تكون D تساوى ١)، ويكون التداخل ضعيفاً جداً فى وسط كالماء (حيث تكون D مساويه لـ ٨٠).

ومن أمثلة التداخل الالكتروستاتيكى ارتباط جليسيل - L - تيروزين - L - (glycyl - L - tyrosine) بإنزيم Carbxypeptidase، وهو أحد الإنزيمات المحلله للبروتين والذى يفكك بواقى الطرف الكربوكسيلى لسلسلة عديد الببتيد (الماده الخاضعه فى هذا المثال عباره عن ببتيد ثنائى). فمجموعة الكربوكسيل الطرفية السالبه الشحنة للببتيد الثنائى الذى يمثل الماده الخاضعه تتداخل (تتفاعل) مع مجموعة الجوانيدينيم guanidinium group الموجبه الشحنة فى الحمض الأمينى أرجنين على الإنزيم. وتقدر المسافة بين هذه المجاميع المتضاده فى الشحنة لـ ٢,٨ انجستروم.



الماده الخاضعه

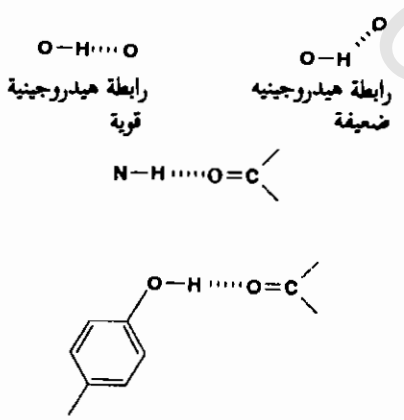
أرجنين فى السلسلة الطرفية للإنزيم

يطلق أيضا على هذا النوع من التداخل بالرابطه الأيونيه ionic bond، أو الارتباط الملحى salt likage، أو الجسر الملحى salt bridge، أو الزوج الأيونى ion pair. وكل هذه المصطلحات لها نفس المعنى: أى تداخل (تجاذب) الكتروستاتيكى بين المجموعات

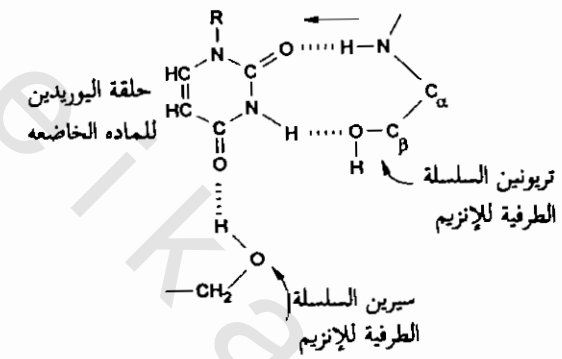
المتضاده فى الشحنه. فالماده الخاضعه سالبه الشحنه يمكن أن تكوّن رابطه الكتروستاتيكية مع السلسلة الطرفية الموجبه الشحنه العائدة إما للارجنين أو اللايسين. وتعتبر أيضا مجموعه الايميدازول imidazol group فى الهستيدين ومجموعه الأمينو الطرفية مواضع ارتباط للمواد الخاضعه السالبه الشحنه. أما بالنسبة للماده الخاضعه الموجبه الشحنه، فإن مواضع ارتباطها على الانزيم هى مجاميع الكربوكسيل السالبه الشحنه فى الاسبارتات والجلوتامات، وكذلك مجموعه الكربوكسيل الطرفية لسلسلة عديد الببتيد.

المواد الخاضعه ترتبط بالإنزيمات بواسطة روابط هيدروجينية موجهه بدقة

العديد من المواد الخاضعه تكون عديمة الشحنة، إلا أنها بالرغم من ذلك ترتبط الإنزيمات بألفه وتخصص عاليين. والتداخل الأساسى لمثل هذه المواد الخاضعه مع الانزيمات، وكذلك لمعظم المواد الخاضعه الحاملة للشحنات يرجع إلى الروابط الهيدروجينية (راجع فصل ٢). ومن الصفات المهمة للروابط الهيدروجينية أنها روابط موجهه directional bond، بمعنى أن الرابطه الهيدروجينية تكون قوية إذا كانت الذرة المانحة للهيدروجين وذره الهيدروجين والذره المستقبلة للهيدروجين على خط مستقيم، بينما إذا كانت الذرة المستقبلة تشكل زاوية مع الخط الواصل بين الذره المانحة والهيدروجين، فإن الرابطة الهيدروجينية تكون ضعيفة ويزداد ضعفها بزيادة الزاوية.



يمكن توضيح دور الرابطة الهيدروجينية فى التداخل بين المواد الخاضعه والإنزيمات بالنظر إلى ارتباط وحده اليوريدين للماده الخاضعه مع إنزيم الريبو نيوكلييز ribonulease من البنكرياس، وهو أحد الإنزيمات المفككة لحمض ريبونيوكلييك (شكل ٧ ـ ٢٥). يلاحظ اشتراك ثلاثة روابط هيدروجينيه فى عملية الربط:



شكل ٧ ـ ٢٥

التداخل بالروابط الهيدروجينيجة بين المادة الخاضعه وإنزيم الريبونيوكلييز.

١ ـ أحد مجاميع C = O فى حلقة اليوريدين تكوّن رابطة هيدروجينية مع N – H فى الببتيد.

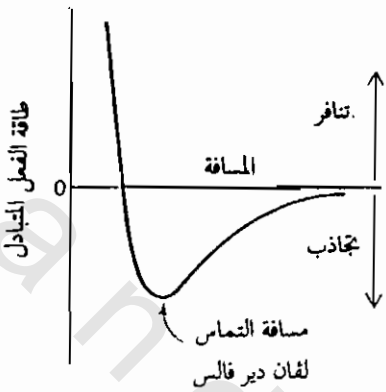
٢ ـ مجموعة N – H فى حلقة اليوريدين تكوّن رابطة هيدروجينية مع OH – فى باقى الثريونين.

٣ ـ مجموعة C = O الأخرى فى حلقة اليوريدين تكوّن رابطة هيدروجينية مع مجموعة OH – فى باقى السيرين.

تداخلات ڤان ديرفالس بين الإنزيم والماده الخاضعه تكون مُهمّة عندما يوجد تكامل (تطابق) مجسم بينهما

توجد قوى تجاذب غير متخصصه بين أى ذرتين عندما تتراوح المسافة بينهما من ٣ إلى ٤ انجستروم. ويطلق على هذا التداخل أو التجاذب برابطة ڤان دير فالس التى تكون أضعف وأقل تخصصا من الرابطة الهيدروجينية والرابطة الالكتروستاتيكية، ولكنها لا تقل عنهما أهمية فى الأنظمة البيولوجية. والأساس فى تكوين رابطة ڤان دير فالس هو تغير

توزيع الشحنة الالكترونية حول الذرة لحظياً بمرور الوقت. ففى أى لحظة ما، لا يكون توزيع الشحنة حول الذرة متماثل بشكل كامل، وعدم التماثل المؤقت هذا فى الشحنة الالكترونية حول الذرة يؤدى إلى تغيير توزيع الالكترونات حول الذرات المجاورة. ومن المعروف أن التجاذب بين ذرتين يزداد كلما اقتربتا من بعضهما البعض إلى أن يفصل بينهما ما يسمى بمسافة التماس لڤان دير فالس Van der Waals Contact distance (شكل ٧ ـ ٢٦). أما إذا كانت المسافة بين ذرتين أقل من مسافة التماس لڤان دير ـ



شكل ٧ ـ ٢٦

طاقة التداخل لڤان دير فالس كدالة فى المسافة بين الذرتين

فالس، فإن ذلك يؤدى إلى تنافر قوى بينهما نظرا للتداخل الحاصل بين سحب الالكترونات الخارجية outer electron clouds. فمثلا تقدر مسافة التماس بين ذرة اكسجين وذرة كربون بـ ٣,٤ انجستروم، والتى هى عبارة عن مجموع انصاف اقطار التماس contact radii لذرتى الاكسجين (١,٤ انجستروم) والكربون (٢,٠ انجستروم). ومدون فى جدول (٧ ـ ٥) انصاف اقطار التماس لبعض الذرات.

وتقدر طاقة رابطة ڤان دير فالس لزوج من الذرات بحوالى ١ كيلو سعر / مول، وهذه الطاقة أقل بكثير من طاقة الرابطة الهيدروجينية والرابطة الالكتروستاتيكية التى تتراوح طاقتهما بين ٣ ـ ٧ كيلو سعر/ مول. يتضح من ذلك عدم وجود أى تأثير لرابطة واحدة من روابط ڤان دير فالس، إذ ان قوتها (أى الرابطة الواحدة) لاتزيد إلا قليلا عن متوسط

متوسط الطاقة الحرارية للجزئيات على درجة حرارة الغرفة الاعتيادية (٦٥,كيلو سعر/ مول). ويكون لروابط ڤان دير فالس أهمية كبيره فى حالة واحدة وهى عند اقتراب عدد كبير من ذرات المادة الخاضعة وفى نفس الوقت مع عدد كبير من ذرات الإنزيم. وتتلاشى قوى ڤان دير فالس بسرعه عندما تكون المسافة بين زوج من الذرات أكبر بانجستروم واحد من مسافة التماس بينهما. ويتمكن عديد من ذرات الماده الخاضعه من التداخل أو التفاعل مع العديد من ذرات الإنزيم إذا كان هناك تطابق فى الشكل المجسّم بين الماده الخاضعه والإنزيم. وبكلام آخر، يحدث تداخل ڤان دير فالس فعّال بين الماده الخاضعه والإنزيم إذا كان هناك تتام بينهما.

جدول ٧ ـ ٥

نصف قطر التماس لڤان دير فالس لبعض الذرات

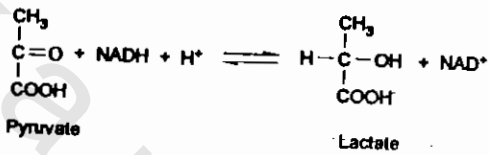
الذرة	نصف القطر (انجستروم)
H	١,٢
C	٢,٠
N	١,٥
O	١,٤
S	١,٨٥
P	١,٩

الأيسو إنزيمات صور مختلفة لنفس الإنزيم تحفز نفس التفاعل ولكنها تختلف فى الثوابت الحركية

قد يتواجد إنزيم ما فى الكائنات المختلفة أو فى الانسجة المختلفة لنفس الكائن فى صور مختلفة التى تحفز نفس التفاعل ولكنها تختلف فى تركيبها وفى الثوابت الحركية (K_m) (V_{max}، وكذلك فى حساسيتها تجاه المثبطات والمنشطات. ويطلق على هذه الصور المتعددة لنفس الإنزيم بالايسو إنزيمات isoenzymes أو الايسوزيم isozymes. وترجع أهمية وجود الأيسو إنزيمات إلى اختلاف الكائنات المختلفة والأنسجة المختلفة فى درجة

نشاطها الأيضى، وكذلك اختلاف هذه الأنسجة فى تركيز المثبطات والمنشطات الخاصة بهذا الإنزيم. اضف إلى ذلك أنه أثناء تطور الكائن الحى، قد تحتاج مرحلة معينة من مراحل النمو إلى أحد الايسو إنزيمات دون الايسو إنزيمات الأخرى.

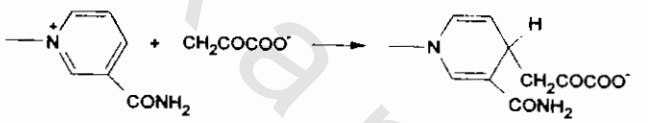
ويمكن توضيح الأساسى الوراثى ووظيفة الأيسو إنزيمات بالنظر إلى إنزيم لاكتات ويهيدروجنيز lactate dehydrogenase (LDH)، الذى يتألف من أربع وحدات من سلاسل عديد الببتيد. يقوم إنزيم لاكتات ويهيدروجنيز بحفز التفاعل التالى تحت الظروف اللاهوائية مثل أنسجة العضلات الهيكلية أثناء المجهود العضلى المكثف.



ويبدو أن الانزيم تحت الظروف الفسيولوجية يلعب دوراً مهماً فى حفز التفاعل فى كلا الاتجاهين، إلا أن تحول البيروفات إلى اللاكتات تحت الظروف اللاهوائية هى أكثر الوظائف فهما. واللاكتات التى تنتج من هذه الأنسجة تفرز إلى الدم حيث تمتص بواسطة الانسجة التى تعمل هوائيا (مثل الكبد وعضلات القلب)، حيث يمكن لانزيم لاكتات ديهيدروجنيز من تحويل اللاكتات مرة أخرى إلى البيروفات حتى يمكن استخدامها فى دورة كريبس (انظر فصل ١٢).

معظم الفقاريات تحتوى (على الأقل) على اثنين من الجينات الخاصة بانزيم لاكتات ديهيدروجنيز التى توجه بناء اثنين من سلاسل عديد الببتيد المتشابهة ولكن غير متماثلة يطلق عليهما M و H. وفى انسجة الجنين يكون كلا الجينين نشطين بدرجة متساوية والذى يؤدى إلى تكون كميات مولارية متساوية من سلسلتى عديد الببتيد M و H. والايسو انزيمات التى يمكن ان تتكون هى M_4، M_3H_1، M_2H_2، M_1H_3 و H_4 تكون بنسبة ١ : ٤ : ٦ : ٤ : ١، ويمكن الكشف على هذه الأيسو إنزيمات أو

الايسوزيم بواسطة الاختلاف فى الهجرة الكهربية. ويتضاعف النسيج الجنينى وتميُّزه فإنه تتغير الكميات النسبية من M و H. ففى انسجة القلب التى تعمل دائما تحت الظروف الهوائية فإن الأيسوانزيم H_4 يكون هو السائد. من ناحية أخرى نجد أنه فى العضلات الهيكلية التى تكون لاهوائية تحت ظروف النشاط العضلى المكثف يكون الايسوانزيم M_4 هو السائد. ومن الثابت أن الصورتين H و M قد صممما للقيام بوظائف مميزة. ويمكن توضيح ذلك من دراسة التأثير التثبيطى للبيروفات على انزيم لاكتات ديهيدروجنيز H_4 و M_4. يمكن للبيروفات ان تُكوِّن معقّد تساهمى مع NAD^+ عند المركز النشط للانزيم تبعا للتفاعل التالى:



NAD^+ معقد البيروفات مع NAD^+

والايسوانزيم H_4 يظهر تثبيط اكبر بواسطة هذا المركب عن الايسوانزيم M_4. فا انسجة العضلات النشطة تكون لاهوائية وتنتج كمية كبيرة من البيروفات، وتثبيط انزيم لاكتات ديهيدرجنيز تحت الظروف اللاهوائية يؤدى إلى انخفاض الامداد بـ NAD^+ وغلق مسار الانحلال السُكَّرى (فصل ١١)، الذى يكون له عواقب ضارة. ومن الثابت أن انسجة العضلات الهيكلية النشطة تحتوى على مستوى عالى من البيروفات ولكنها تحوله بسهولة إلى اللاكتات. وهذا يكون ممكنا لان الصورة السائدة من انزيم لاكتات ديهيدروجنيز فى العضلات هى M_4، التى تثبط بدرجة بسيطة بواسطة البيروفات. من ناحية أخرى نجد أن انزيم لاكتات ديهيدروجنيز فى عضلات القلب (H_4) يثبط بواسطة البيروفات وذلك لمنع تبديد هذا المصدر الكربونى الغنى بالطاقة. ومن المحتمل أن الايسوانزيم H_4 يستخدم فى هذه الخلايا لتحوُّل اللاكتات الممتصة إلى بيروفات.

المراجع

Barman, T. : Enzyme Handbook, Vol. 1, Springer - Verlag, New York, 1969.

Boyer, P. D. (ed.) : The enzyme, 3rd., Academic Press, New York, 1970.

Conn, E. E., P. K. Stympf, G. Bruening, and R.H.Doi : Outlines of Biochemistry, 5th ed., John wiley & Sons, New York, 1987.

Dixon M., and E. C. Webb: Enzymes, 3rd ed., London : Longmans, 1976.

Fersht, A. : Enzyme Structure and Mechanism, Freeman, San Francisco, 1977.

Friedmann, H., (ed.) : Benchmark Papers in Biochemistry, vol. 1, Enzymes, Hutchinson Ross, Stroudsburg, Pa., 1981.

Jencks, W. P. : Cataysis in Chemistry and Enzymology, McGraw - Hill, New York 1969.

Lehninger, A.L.: Principles of Biochemistry, New York, Worth, 1982.

Newsholme E.A., and C.Start : Regulation in Metabolism, Wiley, New York, 1973.

Segel, I.H. : Biochemical Calculation, 2nd ed., Wiley, New York, 1976.

Segel, I.H. : Enzyme Kinetics : Behavior and Analysis of Rapid Equilbrium and steady state Enzyme Systems, Wiley, New York, 1975.

obeikandl.com

Stryer, L. : Biochemistry, Freeman, San Francisco, 1981.

Zubay, G., (ed.) : Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

obeikandl.com

تمارين

١ ـ تحت معظم ظروف الاختبارات البيولوجية المعملية يستخدم الانزيم بتركيز يماثل تركيزه تقريبا فى الخلايا الحية. أحسب تركيز أى من الانزيمات فى الخلايا الحية على افتراض أن

(أ) الانسجة الحية الطازجة تحتوى على ٨٠ ٪ ماء الذى يوجد جميعه داخل الخلايا.

(ب) البروتين الذائب الكلى يمثل ١٥ ٪ من الوزن الرطب.

(جـ) كل البروتينات الذائبة عبارة عن إنزيمات.

(د) متوسط الوزن الجزيئى لأى من البروتينات ١٥٠,٠٠٠.

(هـ) يوجد حوالى ١٠٠ إنزيم مختلف.

٢ ـ ما هو جزء V_{max} المشاهد عند $4\ K_m = [S]$؛ $6\ K_m = [S]$؛ $9\ K_m = [S]$ و $10\ K_m = [S]$؟

٣ ـ أحد الإنزيمات له تساوى 10^{-3} مولر لأحد المواد الخاضعه. عند اختبار الإنزيم باستخدام تركيز إبتدائى مقداره 10^{-5} مولر للماده الخاضعه وجد أن ٢ ٪ من المادة الخاضعة قد استخدمت بعد دقيقة. إحسب تركيز ناتج التفاعل بعد ٣ دقائق من بداية التفاعل؟

٤ ـ أحد الإنزيمات يتبع حركيات ميكيلس ـ مينتين له K_m تساوى $١٠^{-٣}$ مولر. وعندما اختبر الإنزيم عن [S] = $١٠^{-٦}$ مولر وجد أن V تساوى ١ ميكرومول / مل دقيقة. ما هى السرعة إذا اختبر الإنزيم عند [S] = ٢×١٠^{-٦} مولر؟

٥ ـ بالرغم من أن طرق الرسم البيانى تستخدم فى التقدير الدقيق لقيم K_m و V_{max} للتفاعلات المحفزة انزيميا، فإن هذه القيم يمكن حسابها بسرعه من سرعه التفاعل لتركيزات متزايده من الماده الخاضعه. أحسب القيمة التقريبية لـ V_{max} و K_m لتفاعل محفز إنزيميا أمكن الحصول على البيانات التالية له؟

[S] , M	V, µmol / L.min.	[S] , M	V, µmol / L.min.
2.5×10^{-6}	28	4×10^{-5}	112
4.0×10^{-6}	40	1×10^{-4}	128
1×10^{-5}	70	2×10^{-3}	139
2×10^{-5}	95	1×10^{-2}	140

٦ ـ يعتبر إنزيم كاربونيك انهيدريز فى خلايا الدم الحمراء اكثر الإنزيمات المعروفة نشاطاً. ويحفز هذا الإنزيم هيدرة CO_2 والذى يعتبر مهما فى نقل CO_2 من الانسجة إلى الرئتين.

$$H_2O + CO_2 \rightleftharpoons H_2CO_3$$

فإذا كان ١٠ ميكروجرام من إنزيم كاربونيك انهيدريز النقى تحفز هيدره ٣, جرام CO_2 فى الدقيقة عند ٣٧°م تحت الظروف المثلى ـ أحسب رقم التحول الانزيم كاربونيك‌انهيدريز؟

٧ ـ كيف تحد ما إذا ان أحد المثبطات هو مثبط تنافسى أم مثبط لا تناقسى لإنزيم ما.

٨ ـ قدرت حركيات أحد الإنزيمات كداله فى تركيز المادة الخاضعه فى وجود ٢ × ١٠$^{-٣}$ مولر من المثبط (I) وفى غيابه وكانت النتائج كالآتى:

[S]	السرعة (ميكرومول / دقيقة)	
مولر	فى عدم وجود المثبط	فى وجود المثبط
٣,٠ × ١٠$^{-٥}$	١٠,٤	٤,١
٥,٠ × ١٠$^{-٥}$	١٤,٥	٦,٤
١ × ١٠$^{-٥}$	٢٢,٥	١١,٣
٣ × ١٠$^{-٥}$	٣٣,٨	٢٢,٦
٣,٠ × ١٠$^{-٥}$	٤٠,٥	٣٣,٨

(أ) ما هى قيمة V_{max} و K_m فى عدم وجود المثبط؟ وفى وجود المثبط؟

(ب) ما هو نوع المثبط؟

٩ ـ رسم العلاقة بين 1/V و 1/[S] يطلق عليه رسم لاينويفر ـ بروك ـ وأحد الطرق الأخرى فى التعبير عن البيانات الحركية للإنزيم هو رسم العلاقة بين V و V/[S] والذى يعرف باسم رسم أيدى ـ هوفستر.

(أ) عدِّل معادله ميكيلس ـ منتين لتعطى V كداله فى V/[S]

(ب) ما هو دلاله الميل، التقاطع مع الاحداثى X، التقاطع مع الاحداثى Y فى رسم V مع V/[S]

(جـ) ارسم مخطط للعلاقة بين V و V/[S] فى عدم وجود مثبط، وفى وجود مثبط تنافسى وفى وجود مثبط لا تنافسى.

obeikandl.com

المرافقات الإنزيمية

Coenzymes

هناك عدداً كبيراً من التفاعلات الخلوية التى لا تتم بواسطة الإنزيمات بمفردها. فى هذه الحالة فإن الإنزيم يحفز التفاعل بالتعاون مع عامل مساعد cofactor غير بروتينى والذى يحتوى على النشاط الكيميائى المطلوب، وبذلك فإنه يمكن إعتبار العامل المساعد جزءاً ضرورياً من ميكانيكية الحفز الإنزيمى. ومن هذه العوامل المساعد الإنزيمية ما قد يكون جزيئاً عضوياً يعرف بالمرافق الإنزيمى coenzyme، الذى يرتبط أحيانا بقوة ببروتين الإنزيم ويطلق عليه فى هذه الحالة بالمجموعة التعويضية المتصلة prosthetic group، أو قد يكون عنصراً غير عضوى مثل أيونات بعض المعادن. فى بعض الإنزيمات قد تشترك العوامل المساعدة بصورة مباشرة فى عملية الحفز وفى البعض الآخر تتوسط تبادل مجموعات كيميائية منشطة بين المواد الخاضعه. وبالرغم من أن العوامل المساعدة الإنزيمية توجد بكميات صغيرة فى الخلايا الحية فإنها ضرورية لنشاط عدد كبير من الإنزيمات، ولذلك فإنها تلعب دوراً رئيسياً فى أيض الخلية.

> المرافق الإنزيمى Coenzyme
>
> يمكن تعريف المرافق الإنزيمى بأنه جزئ يحتوى على بعض الخواص الفيزيوكيميائية التى لا توجد فى سلسلة عديد الببتيد للإنزيم ولذلك يعملا سوياً فى حفز التفاعل البيوكيميائى

الفيتامينات مكونات أساسية للمرافقات الإنزيمية

أكتشفت المرافقات الإنزيمية فى بادئ الأمر كفيتامينات Vitamins أو عوامل نمو فى دراسات التغذية على الحيوانات. والفيتامينات جزيئات عضوية يجب تواجدها فى غذاء الحيوانات الراقية. وهذه الجزيئات تقوم تقريبا بنفس الدور البيولوجى فى كل الكائنات الحية، ولكن الحيوانات الراقية ليس لها القدره على ابتنائها من مواد أولية، ولذلك فإن نقص هذه الفيتامينات فى غذاء الحيوانات الراقية يسبب أمراض نقص غذائى (جدول ٨ ـ ١). يوجد قسمان من الفيتامينات، فأما القسم الأول فيشمل الفيتامينات الذائبة فى

جدول ٨ ـ ١

الأمراض الغذائية المرتبطة بالفيتامينات الذائبه فى الماء

الفيتامين	مرض النقص الغذائى
فيتامين (ب١)	برى برى فى الإنسان
ريبوفلافين (ب٢)	عامل نمو فى الفئران
بايريدوكسال (ب٦)	البلاجرا فى الفئران
حمض النيكوتنيك	البلاجرا فى الإنسان
حمض البانتوثنيك	التهاب الجلد فى الدجاج
بيوتين	التهاب الجلد فى الإنسان
حمض الفوليك	تضخم خلايا الدم
فيتامين ب١٢	الأنيميا الوبيله

الدهون والتى يرمز بها بالحروف A، D، K، و E، أما القسم الآخر فيشمل الفيتامينات الذائبة فى الماء. ولقد عُرف الدور البيولوجى لمعظم الفيتامينات الذائبة فى الماء، وفى الحقيقة فإن معظم هذه الفيتامينات تعتبر مكونات أساسية للمرافقات الإنزيمية (جدول ٨ ـ ٢). فتتحول الفيتامينات الذائبة فى الماء إنزيميا فى خلايا الحيوانات الراقية إلى المرافق

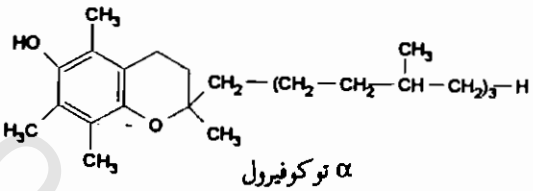
الإنزيمى المقابل. مثال ذلك ريبوفلافين (فيتامين ب٢) هو مادة بادئة لتكوين الفلافين أدنين ثنائى النيوكليوتيد

جدول ٨ ـ ٢

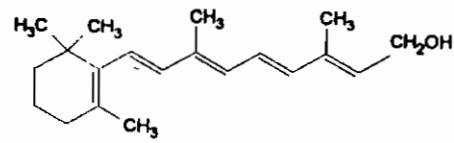
الفيتامينات الذائبة فى الماء والمرافقات الإنزيمية المقابلة

الفيتامين	المرافق الإنزيمى	نوع التفاعل الإنزيمى
ثيامين (ب١)	ثيامين بيروفوسفات	إزالة مجموعة الكربوكسيل من الاحماض الكيتونية ـ الفا
ريبوفلافين (ب٢)	فلافين أدنين أحادى النيوكليوتيد فلافين أدنين ثنائى النيوكلوتيد	تفاعلات الاكسدة والاختزال.
حمض النيكوتنيك	نيكوتيناميد أدنين ثنائى النيوكليوتيد نيكوتيناميد ادنين ثنائى النيوكلوتيد فوسفات	تفاعلات الاكسدة والاختزال
حمض البانتوثنيك	المرافق الإنزيمى A	نقل مجموعة الاسيتايل
بايريدوكسين (ب٦)	بايرويدوكسال فوسفات	نقل مجموعة الأمينو
بيوتين	بيوتين	نقل CO_2
حمض الفوليك	رباعى هيدروفوليك	نقل مجموعة تحتوى على ذرة كربون واحدة
فيتامين ب١٢ (كوبلامين)	٥ ـ دى اوكسى أدينوزيل كوبالامين	نقل ذرة هيدروجين من ذرة كربون إلى ذرة كربون مجاورة
حمض الاسكوربيك		عامل مساعد فى تفاعلات الهيدروكسلة

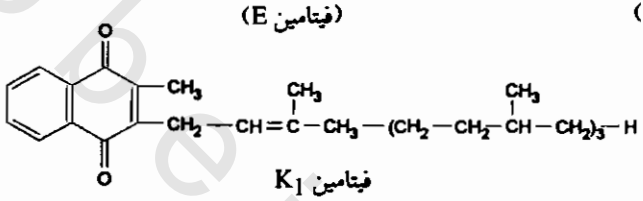
قليل من المعلومات معروف عن الأساس الجزيئى للدور البيولوجى للفيتامينات الذائبة فى الدهون (شكل ٨ ـ ١). فيتامين K ضرورى لتجلط الدم وذلك باشتراكه فى تفاعل إدخال مجموعة الكربوكسيل فى حمض الجلوتاميك فى بروتين بروثرومبين وتحويله إلى جاما كربوكسى جلوتامات. وفيتامين A (ريتينول) هو المادة البادئة فى عملية إبتناء الريتينال وهى المادة التى تمتص الضوء فى صبغات الإبصار، والنقص فى هذا الفيتامين يسبب العشى الليلى. بالإضافة إلى ذلك فإن فيتامين A ضرورى لنمو الحيوانات الصغيرة. أيض الكالسيوم والفوسفور ينظم بواسطة هورمون ١ ، ٢٥ ثنائى



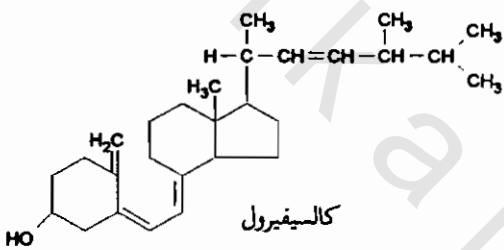
α توكوفيرول
(فيتامين E)



ريتينول
(فيتامين A)



فيتامين K_1



كالسيفيرول
(D_2 فيتامين)

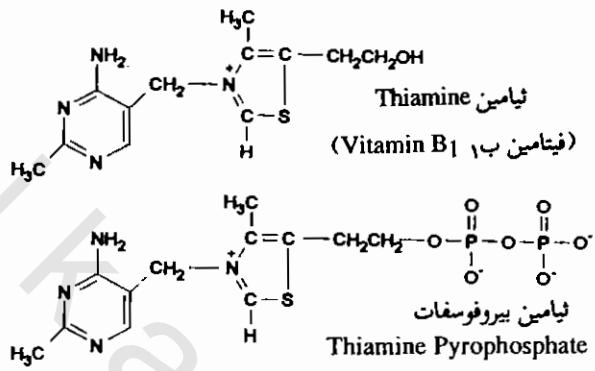
شكل ٨ ـ ١
تركيب بعض الفيتامينات الذائبة فى الدهون

هيدروكسى فيتامين D_3 (1,25 - dihydroxyvitamin D_3) D_3 المشتق من فيتامين D، ونقصه يسبب لين العظام فى الحيوانات النامية. أما نقص فيتامين E فيحدث العقم فى الفئران، أضف إلى ذلك دوره المهم فى حماية الليبيدات غير المشبعه فى الأغشية الخلوية من الاكسدة.

ثيامين بيروفوسفات يعمل كحامل مؤقت لمجموعه ألدهيد فى تفاعلات إزاله مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الكيتونية ألفا.

ثيامين بيروفوسفات (يختصر إلى TPP) هو المرافق الإنزيمى المشتق من الثيامين (فيتامين ب١) وذلك بإضافة وحده بيروفوسفات إلى حلقة الثيازول فى الفيتامين (شكل ٨ ـ ٢). يعمل ثيامين بيروفوسفات كمرافق إنزيمى مع الإنزيمات التى تحفز إزالة

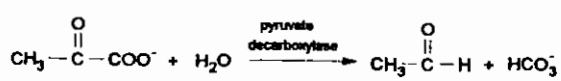
مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الكيتونية ألفا والإنزيمات التى تحفز نقل مجموعة ألدهيد (- CH_2 - CHO) من مادة خاضعه إلى مادة خاضعه أخرى. فى هذه التفاعلات يعمل ثيامين بيروفوسفات الذى يرتبط بقوة بالإنزيم كحامل مؤقت لمجموعة الألدهيد التى ترتبط تساهميا بحلقة الثيازول أثناء الحفز الإنزيمى.



شكل ٨ ـ ٢

(فيتامين ب١) والصورة النشطة له (المرافق الإنزيمى) ثيامين بيروفوسفات

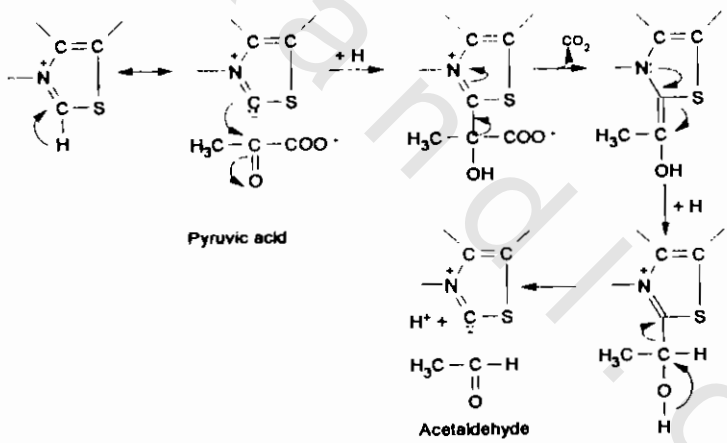
ومن أبسط هذه التفاعلات هو التفاعل الذى يُحفز بإنزيم بيروفات دى كربوكسيلير Pyruvate decarboxylase وهو خطوة أساسية فى تخمر الجلوكوز إلى إيثانول بواسطة الخميرة. فى هذا التفاعل تزال مجموعة الكربوكسيل من البيروفات وتفقد فى صورة CO_2، أما باقى جزئ البيروفات وهو الأسيتالدهيد فينفرد من ثيامين بيروفوسفات فى صورة حرة



يعمل ثيامين بيروفوسفات كمجموعة تعويضية مع مجموعة أخرى من الإنزيمات فى مسار أكسدة الكربوهيدرات فى الخلية والتى تشمل

α-Ketoglutarate dehydrogenase , pyrurate dehydrogenase , transketolase

ويمكن توضيح ميكانيكية عمل ثيامين بيروفوسفات بالنظر إلى تفاعل إنزيم Pyravate decaboxylase (شكل ٨ ـ ٣). فذرة الكربون الموجوده بين ذرة النتروجين وذرة الكبريت فى حلقة الثيازول ذات حامضية كبيرة، حيث يمكن أن تتأين بفقد البروتون مكونه أنيون كربونى Carbnion. هذا الأنيون يدخل فى تفاعل إضافة نيوكليوفيلى مع مجموعة الكربونيل فى البيروفات مكوناً مركب وسيط هو لاكتيك ـ ثيامين بيروفوسفات. تعمل الشحنة الموجبه على النتروجين فى ثيامين بيروفوسفات على إستقرار الشحنة السالبة الناتجة من إزالة مجموعة الكربوكسيل مع تكوين هيدروكسى إيثايل ثيامين بيروفوسفات. تتأكسد بعد ذلك مجموعة هيدروكسى إيثايل المرتبطة بالثيامين بيروفوسفات وتنفرد فى صورة اسيتالدهيد ويتكون ثيامين بيروفوسفات الحر الذى يمكن أن يقوم بدوره تفاعل جديدة.



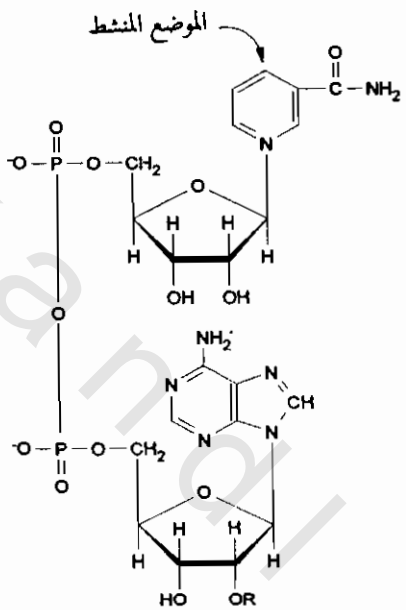
شكل ٨ ـ ٣

ميكانيكية عمل ثيامين بيروفوسفات فى تفاعل إزالة مجموعة الكربوكسيل من البيروفات وتكوين الأسيتالدهيد

المرافقات الانزيمية للنيكوتيناميد هى حاملات الالكترونات الأساسية فى تفاعلات الاكسدة والاختزال

نيكوتيناميد أدنين ثنائى النيوكليوتيد (NAD^+) أحد اثنين من المرافقات الإنزيمية التى

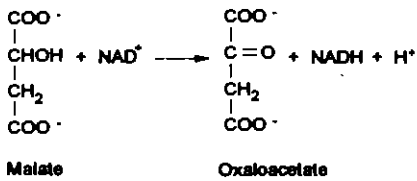
تحتوى على النيكوتيناميد وهو الصورة النشطة لفيتامين النياسين (حمض النيكوتنيك). والمرافق الإنزيمى الآخر هو نيكوتيناميد أدنين ثنائى النيكليوتيدفوسفات ($NADP^+$)، والذى يختلف عن $NADP^+$ فى إحتوائه على مجموعة فوسفات على ذرة الكربون الثانية فى ريبوز وحده الأدينوزين (شكل ٨ ـ ٤).



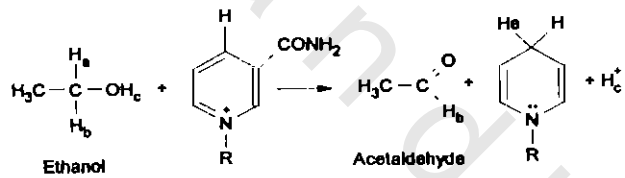
شكل ٨ ـ ٤

تركيب الصورة المُؤكسدة للنيكوتيناميد ادنين ثنائى النيوكليوتيد Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) ونيكوتيناميد ادنين ثنائى النيوكليوتيد فوسفات Nicotinamide adenine dinucleotid phosphate ($NADP^+$) فى NAD^+ فإن H = R، وفى $NADP^+$ فإن PO_3^{-2} = R

تعمل المرافقات الإنزيميـة للنيكوتينامیـد كحاملات لأيون الهيدريد H^- (إثنين الكترون + بروتـون) الـذى يزال إنزيميا من المواد الخاضعه تحت حفز بعض إنزيمات dehydrogenase حيث تتحول هذه المرافقات الإنزيمية إلى الصورة المختزلة وهى



NADH و NADPH. مثال ذلك تفاعل اكسدة المالات malate إلى اكسالواسيتات oxaloacetate بواسطة انزيم مالات ديهيدروجنيز malate dehydrogenase وهو أحد التفاعلات فى مسار أكسدة الكربوهيدرات. ففى هذا التفاعل وفى تفاعلات إنزيمات الديهيدروجنيز بصفة عامة فإن ذرة هيدروجين فى صورة أيون هيدريد تنتقل مباشرة من المادة الخاضعه إلى حلقة النيكوتيناميد فى المرافق الإنزيمى، بينما ذرة الهيدروجين الأخرى تظهر فى المحلول فى صورة أيون هيدروجين (بروتون) (شكل ٨ ـ ٥).



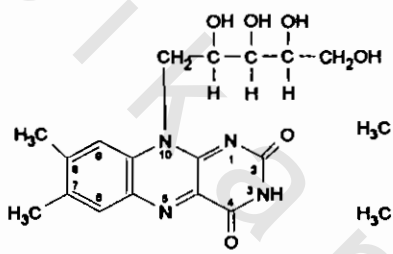
شكل ٨ ـ ٥

اكسدة الايثانول ethanol إلى الاسيتالدهيد acetaldehyde بواسطة إنزيم الكحول ديهيدروجنيز. فى هذا التفاعل ينتقل أيون هيدريد مباشرة إلى حلقة النيكوتيناميد فى المرافق الإنزيمى بينما ذرة الهيدروجين الأخرى المزالة من الايثانول تظهر فى المحلول فى صورة بروتون (H^+)

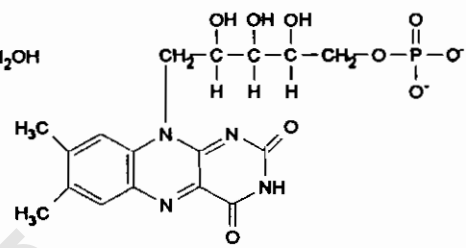
يوجد عدد كبير من إنزيمات الديهيدروجنيز كل منها متخصص لمادة تفاعل معينة. بعضها قد يعمل فقط مع NAD^+، والبعض الآخر يحتاج إلى $NADP^+$، وعدد قليل من الإنزيمات يكون فعالاً مع كل من NAD^+ و $NADP^+$. فى معظم إنزيمات الديهيدروجنيز فإن NAD^+ (أو $NADP^+$) يرتبط بالانزيم مؤقتا أثناء عملية الحفز، ولكن فى عدد قليل يرتبط المرافق الإنزيمى بقوة بالإنزيم ويبقى على المركز النشط للإنزيم بصورة دائمة.

المرافقات الإنزيمية للفلافين تعمل أيضا كحاملات للالكترونات فى تفاعلات الأكسدة والإختزال

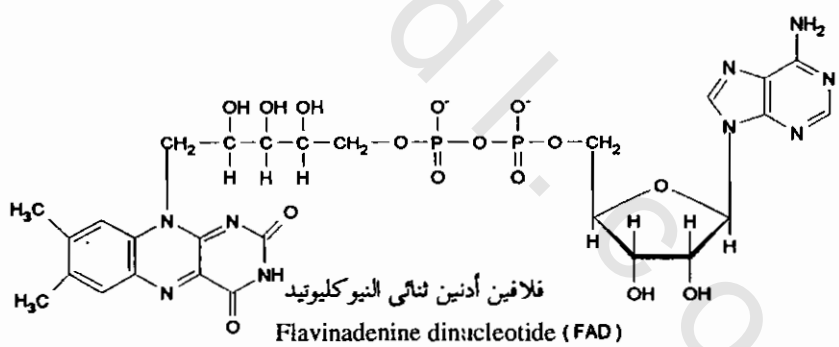
فلافين أحادى النيوكليوتيد (FMN)، وفلافين أدنين ثنائى النيوكليوتيد (FAD) (شكل ٨ ـ ٦)، هما المرافقان الإنزيميان النشطان للريبوفلافين (فيتامين ب٢)، ويطلق عليهما بالمرافقات الإنزيمية للفلافين flavin coenzyme. تعمل المرافقات الإنزيمية للفلافين (FMN و FAD) فى تفاعلات الأكسدة والاختزال مع إنزيمات ديهيدروجنيز Dehydrogenase واكسيديز Oxidase ومونواكسجنيز monooxygenase حيث



ريبوفلافين (فيتامين ب٢)



فلافين أحادى النيوكليوتيد



فلافين أدنين ثنائى النيوكليوتيد

Flavinadenine dinucleotide (FAD)

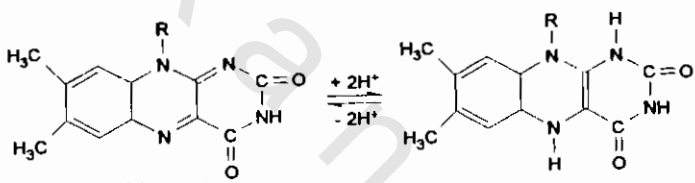
شكل ٨ ـ ٦

ريبوفلافين والمرافقات الإنزيمية FMN و FAD المشتقة منه.

تستقبل ذرتى هيدروجين من المادة الخاضعة. والمرافقات الإنزيمية FMN و FAD توجد مرتبطة بثبات مع بروتين الإنزيم، ويظل هذا الارتباط أثناء عمليات التنقية المختلفة للإنزيمات المحتوية على هذه المرافقات الانزيمية، ولذلك تعرف هذه الإنزيمات

بالفلافو إنزيمات flavoenzymes أو الفلافو بروتينات. ويظهر أن FMN و FAD لهما نفس الوظيفة إلا أن إختيار أحدهما مع إنزيم ما هو إنعكاس لارتباطهما المتخصص بالإنزيم.

الجزء النشط فى FMN و FAD هو حلقة أيسو ألوكسازين (شكل ٨ ـ ٧)، وتشابه هذه المرافقات الإنزيمية المرافقات الإنزيمية للنيكوتيناميد NAD^+ و $NADP^+$ فى أنها تستقبل زوج من الالكترونات من المادة الخاضعة، مع ذلك فإن كل من FMN و FAD تستقبل ذرتى الهيدروجين المزالة من المادة الخاضعة بخلاف NAD^+ و $NADP^+$ اللذان يستقبلان ذرة هيدروجين واحدة فى صورة أيون هيدريد (H^-) بينما الذرة الأخرى تتحرر إلى المحلول فى صورة بروتون (H^+).

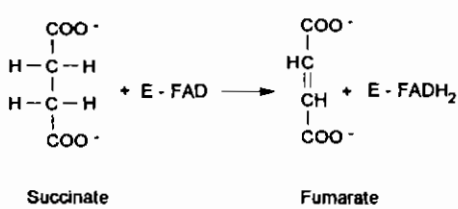


R = بقية جزئ FMN أو FAD

شكل ٨ ـ ٧

الانتقال الانعكاسى لزوج من ذرات الهيدروجين من المادة الخاضعة إلى حلقة الأيسو الوكسازين isoalloxazine ring فى FMN و FAD .

ومن أمثلة انزيمات الفلافوبروتين إنزيم سكسنات ديهيدروجنيز Succinate dehy-rogenase الذى يحفز التفاعل التالى:

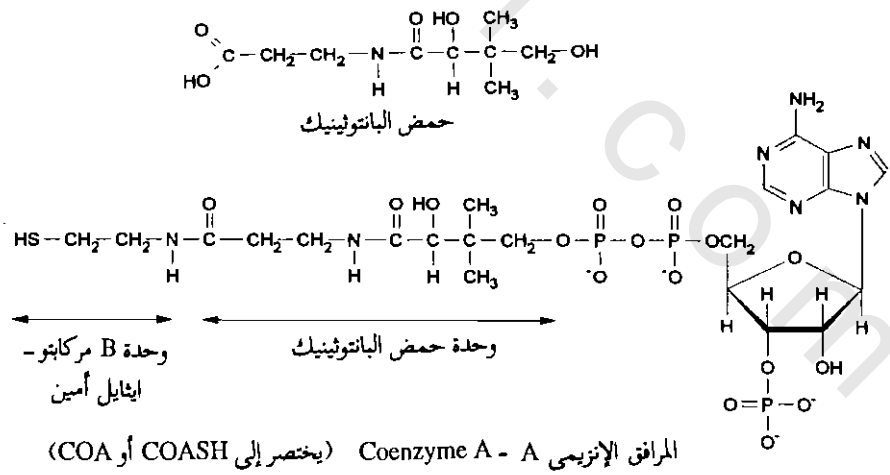


حيث يعبر E - FAD عن بروتين الإنزيم الذى يرتبط بقوه بالمرافق الانزيمى FAD. بعض إنزيمات الفلافو بروتينات تحتوى أيضا على ذرة معدنية فى المركز النشط مثل الحديد والتى تبدو أنها تشارك فى عملية الحفز الإنزيمى.

هناك من الدلائل التجريبية العديدة التى تشير إلى أن اختزال FMN و FAD يتم فى خطوتين بحيث يكتسب المرافق الإنزيمى الكترون واحد فى كل خطوة وبذلك يتكون سيمى كينون كمركب وسيط. وتظهر أهمية هذه المرافقات الإنزيمية فى أنها تمثل نقطة التحول بين العمليات التى تشمل نقل إثنين من الالكترونات وهى السائدة فى السيتوسول إلى العمليات التى تشمل نقل الكترون واحد السائدة فى سلسلة نقل الالكترونات فى الغشاء الداخلى للميتوكوندريا.

المرافق الإنزيمى A يعمل كحامل عامل لمجموعات الأسايل

المرافق الإنزيمى A (الحرف A يرمز إلى الأسيلة) هو الصورة البيوكيميائية لفيتامين حمض البانتوثينيك (شكل ٨ ـ ٨). يعمل المرافق الإنزيمى A فى عدد كبير من التفاعلات الانزيمية المختلفة التى تشمل استقبال مجموعة أسايل من المادة الخاضعة ونقلها إلى مركب آخر. المرافق الإنزيمى A هو إذن حامل مؤقت لمجموعة الأسايل.

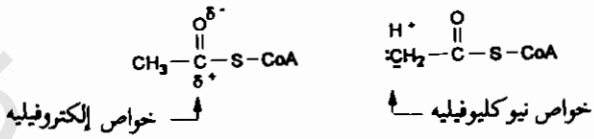


المرافق الإنزيمى A - Coenzyme A (يختصر إلى COASH أو COA)

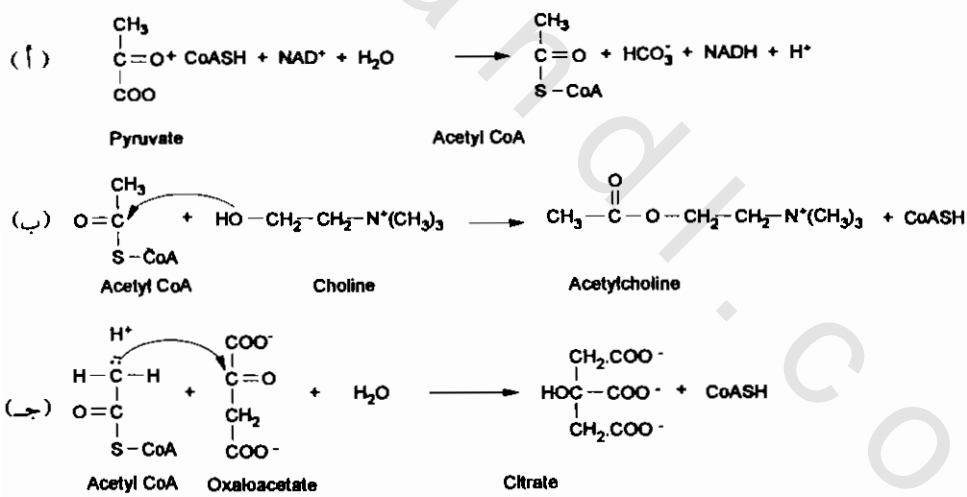
شكل ٨ ـ ٨

حمض البانتوثينيك Pantothenic acid والمرافق الإنزيمى A (Coenzyme A)

مجموعة الثيول أو السلفهيدريل (SH-) هى المجموعة الفعّالة النشطة فى المرافق الإنزيمى والتى تشترك مباشرة فى التفاعل الإنزيمى بارتباطها المباشر مع مجموعة الأسايل



مكوِّنة أسترات الثيول. استرات الثيول بدورها يمكن أن تعمل كعامل أسيلة أو الكله فى تفاعلات أخرى نتيجة لخواصها الالكتروفيلية والنيوكليوفيلية. ويوضح شكل (٨ ـ ٩) ثلاثة أنواع مختلفة من التفاعلات التى يشترك بها المرافق الإنزيمى A. فى التفاعل الأول (أ) يستقبل المرافق الإنزيمى A مجموعة أسيتايل من البيروفات ويتحول إلى أسيتايل مرافق



شكل ٨ ـ ٩

دور المرافق الإنزيمى A (CoASH) فى التفاعلات البيولوجية

(أ) يعمل CoASH كمستقبل لمجموعة الأسيتايل.

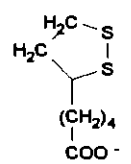
(ب) يعمل CoASH كعامل استلة نتيجة لخواصه الالكتروفيلية

(جـ) يعمل CoASH كعامل الكلة نتيجة لخواصه النيوكليوفيلية

إنزيمى A تحت حفز إنزيم بيروفات ديهيدروجنير، فى هذا التفاعل يعمل المرافق الإنزيمى A كمستقبل لمجموعة الأسايل (أسيتايل). فى التفاعل الثانى (ب) يقوم أسيتايل المرافق الأنزيمى A بدور عامل أستلة فيقوم بنقل مجموعة الأسيتايل إلى كولين ويتكون أسيتايل كولين، يحفز هذا التفاعل انزيم acetycholine estrase. تعزى مقدره أسيتايل مرافق إنزيمى A كعامل أستله (أو أسيله) بالإضافة إلى الخواص الالكتروفيليه فى أنَّ نواتج التفاعل وهى استرات الاكسجين أكثر استقراراً من استرات الثيول، وبذلك يصاحب التفاعل تحرير كمية كبيره من الطاقة الحرة. فى التفاعل الثالث (ج) يقوم مرافق إنزيمى A بدور عامل ألكه نتيجة لخواصه النيوكليوفيلية. فتنقل مجموعة الأسيتايل من المرافق الإنزيمى A إلى الأوكسالواسيتات ويتكون حمض الستريك، يحفز هذا التفاعل إنزيم Citrate Synthase.

حمض الليبويك يعمل كحامل وسيط للالكترونات ومجموعة الأسايل المُنشّطة فى تفاعلات إزالة مجموعة الكربوكسيل من البيروفات والفاكيتوجلوتارات

يُمثّل حمض الليبويك lipoic acid عامل نمو لبعض أنواع البكتريا ولكنه لا يُعتبر فيتامين لأنه لا يمثل أحد العناصر الضرورية فى غذاء الإنسان، فيمكن للإنسان بناء حمض الليبويك بالكميات الضرورية له. وحمض الليبويك هو حمض ٦ ، ٨ ـ ثنائى ثيواكتانويك الذى يحتوى على رابطة داخلية ثنائية الكبريتيد (شكل ٨ ـ ١٠).



Lipoic acid

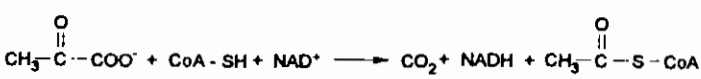
شكل ٨ ـ ١٠

حمض الليبويك. يوحد حمض الليبويك مرتبطا ببروتين الإنزيم برابطة أميد بين مجموعة الكربوكسيل فى حمض الليبويك ومجموعة الأمين الطرفيه فى حمض الليسين فى البروتين

إن وظيفة حمض الليبويك هو عمله كوسيط فى نقل الالكترونات ومجموعات الأسايل النشطة الناتجة من إزالة مجموعة الكربوكسيل مع الاكسده للبيروفات والفاكيتوجلوتارات والتى تحفز بواسطة Pyruvate dehydrogenase complex و α-ketoglutarate dehydrogenase complex على التوالى. فى هذه العملية يختزل حمض الليبويك بصورة مؤقتة إلى حمض ثنائى هيدروليبويك الذى يستقبل مجموعة الأسايل المنشطة.

وسلسلة تفاعلات تحول البيروفات إلى أسيتايل مرافق إنزيمى A بواسطة Pyruvate dehydrogenase complex الذى يحتوى على ثلاثة إنزيمات يمكن أن توضح الدور الوظيفى لحمض الليبويك فى هذه التفاعلات (شكل ٨ ـ ١١).

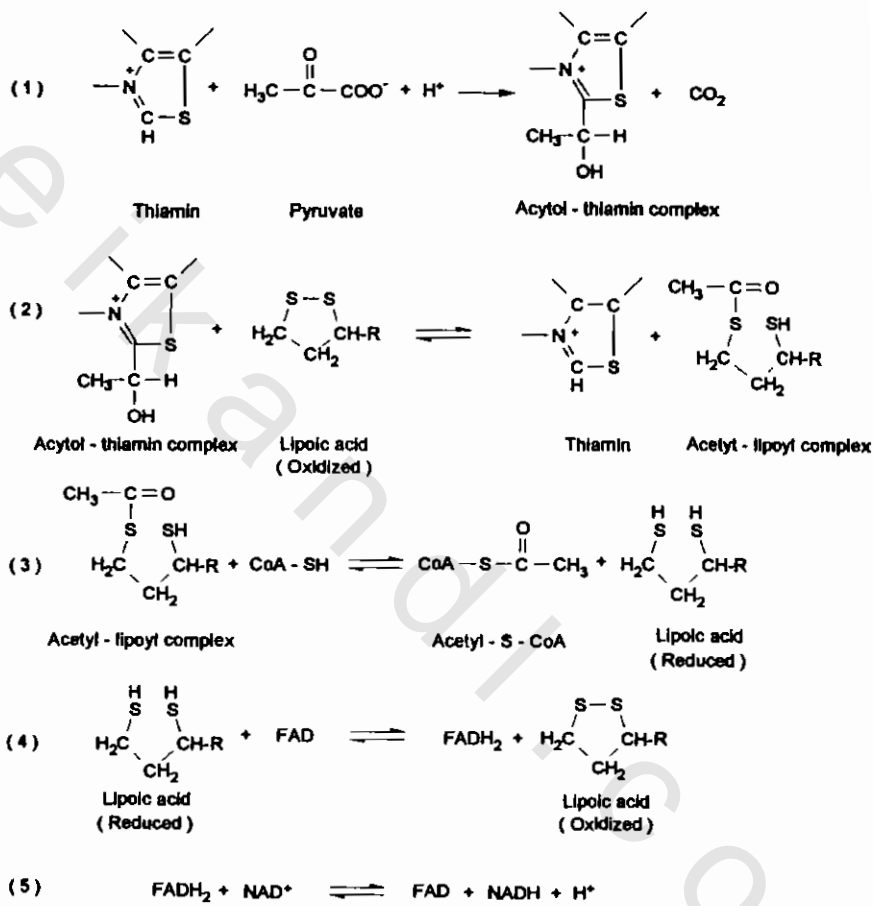
فى التفاعل الأول تنزع مجموعة الكربوكسيل من البيروفات بعد ارتباطها بالثيامين بيروفوسفات الذى يوجد مرتبطا بالإنزيم الأول فى المتراكب الإنزيمى. فى الخطوة الثانية تتأكسد مجموعة الهيدروكسيل فى هيدروكسى إيثايل المرتبط بالثيمين وتتكون مجموعة أسيتايل التى تنقل إلى حمض الليبويك المرتبط بالإنزيم الثانى فى المتراكب الإنزيمى. فى الخطوة الثالثة تنقل مجموعة الأسيتايل إلى المرافق الإنزيمى A مع تكوين الصورة المختزلة لحمض الليبويك (حمض ثنائى هيدروليبويك). فى الخطوة الرابعة يتولد حمض الليبويك تستقبل الالكترونات بواسطة FAD الذى يتحول إلى $FADH_2$. وفى الخطوة الأخيرة يتأكسد $FADH_2$ بواسطة NAD^+ مع تكوين FAD و NADH. ومجموع هذه التفاعلات هو:



بايريدوكسال فوسفات يقوم بدور هام فى أيض الأحماض الأمينية

بايريدوكسال ـ ٥` ـ فوسفات Pyridoxal - 5` - phosphate هو صورة المرافق الإنزيمى لفيتامين ب٦ والذى له التركيب الموضح فى شكل (٨ ـ ١٢). يشتمل فيتامين ب٦

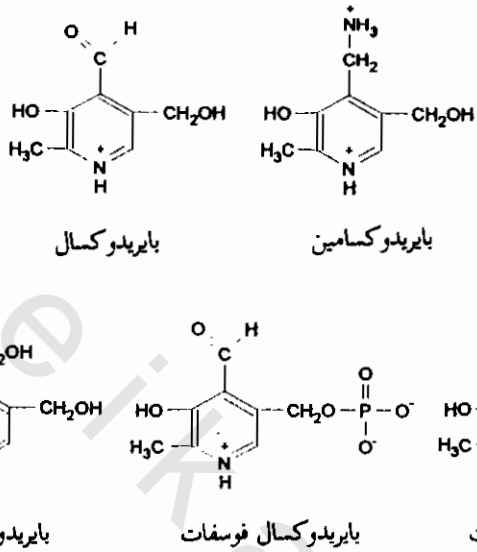
على مجموعة من المركبات المتشابهة التى لا تحتوى على مجموعة فوسفات وهى بايريدوكسال وبايريدوكسامين وبايريدوكسين.



شكل ٨ ـ ١١

تحول البيروفات إلى أسيتايل مرافق انزيمى A تحت حفز المتراكب الإنزيمى Pyruvate dehydrogenase complex

يعمل بايريدوكسال فوسفات كمرافق إنزيمى فى مجموعة مختلفة من تفاعلات الأحماض الأمينية ألفا منها نقل مجموعة الأمين، نزع مجموعة الكربوكسيل وتحويل

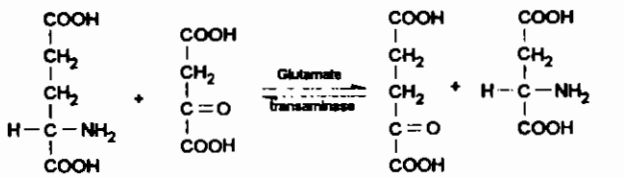


شكل ٨ ـ ١٢

فيتامين ب٦ والمرافقات الإنزيمية المشتقة منه.

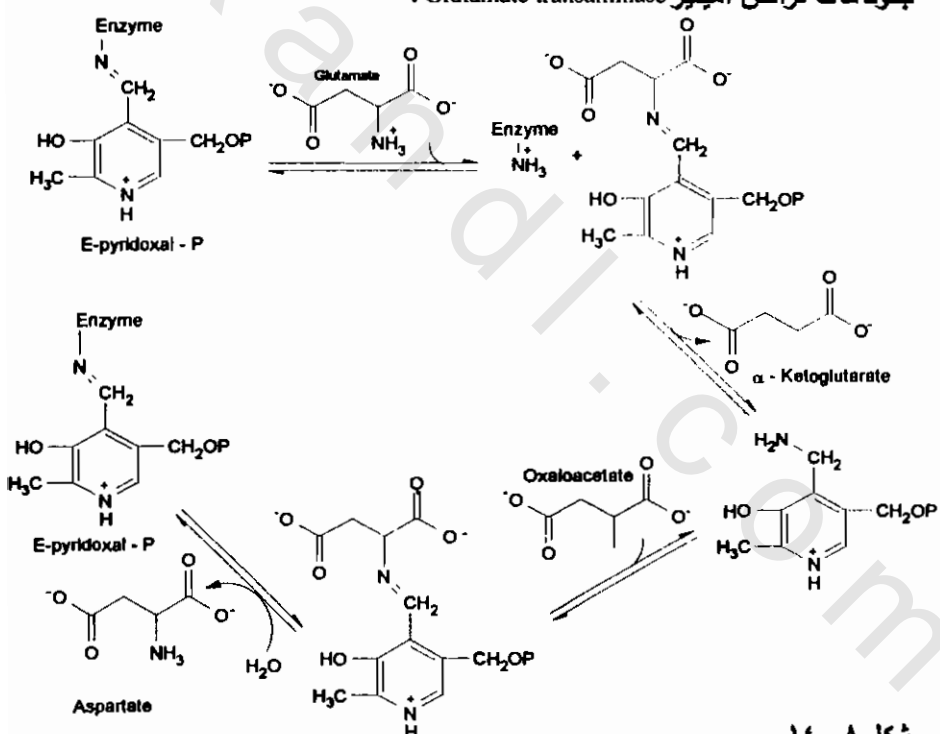
مُتشكِّل ضوئى إلى آخر. ويحفز كل من هذه التفاعلات إنزيم مختلف متخصص، ولكن فى كل حالة يكون بايرويدوكسال فوسفات هو المرافق الإنزيمى الذى يرتبط بقوة بالإنزيم. أكثر هذه التفاعلات شيوعا هى تفاعلات نقل مجموعة الأمين transaminase التى يتم فيها نقل مجموعة الأمينو من أحد الأحماض الأمينية إلى ذرة الكربون ألفا فى حمض ألفا كيتونى. مثال ذلك نقل مجموعة الأمينو من حمض جلوتاميك إلى كسالوأسيتات (شكل ٨ ـ ١٣)، الذى يحفز بإنزيم glutamate transaminase (يدعى أيضا glutamate transferase). فى عملية حفز نقل مجموعة الأمينو تنقل مجموعة الأمينو من الحمض الأمينى إلى بايريدوكسال فوسفات المرتبط بالإنزيم، بينما يتحول الحمض الأمينى إلى الحمض الفاكيتونى المقابل (شكل ٨ ـ ١٤). ينقل المشتق الأمينى المتكون للمرافق الإنزيمى (أى بايريدوكسامين فوسفات) مجموعته الأمينية إلى المادة الخاضعه الثانية وهى الحمض الألفا كيتونى الذى يتحول إلى الحمض الأمينى المقابل، بينما يتولد بايريدوكسال فوسفات مرة ثانية. ويمكن أن يتم نقل مجموعة

الأمينو الممثلة بهذا التفاعل من أى من الأحماض الأمينية المختلفة إلى حمض ألفا كيتوجلوتارات الذى يعمل كمستقبل عام لمجموعة الأمينو لينتج حمض الجلوتاميك وهو المركب الأساسى فى أيض الأحماض الأمينية.



شكل ٨ ـ ١٣

تفاعل نقل مجموعة الأمينو من حمض الجلوتاميك إلى اكسالوأسيتات الذى يُحفز بإنزيم جلوتامات ترانس أمينيز Glutamate transaminase .



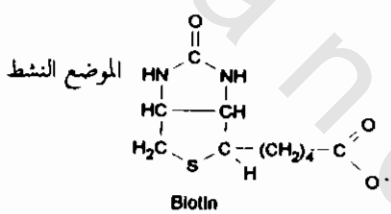
شكل ٨ ـ ١٤

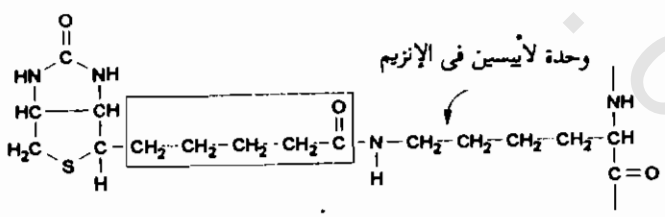
ميكانيكية تفاعل البايريدوكسال فوسفات فى تفاعل نقل مجموعة الأمينو من الجلوتامات إلى الاكسالوأسيتات.

معظم التفاعلات الإنزيمية المشتملة على بايريدوكسال فوسفات تحفز بواسطة المرافق الإنزيمى بمفرده فى غياب الإنزيم، ولكن يتم التفاعل ببطء وعلى درجات حرارة مرتفعة. ويبدو من ذلك أن دور الإنزيم هو تعجيل معدّل التفاعل وكذلك تحديد التخصص بالنسبة للمادة الخاضعة.

البيوتين يعمل كحامل لمجموعة الكربوكسيل فى عدد من تفاعلات الكربكسله

البيوتين Biotin (شكل ٨ ـ ١٥) هو أحد الفيتامينات الذائبة فى الماء ويعمل كمجموعة تعويضية لعدد من الإنزيمات التى تقوم بادماج مجموعة كربوكسيل. يوجد البيوتين مرتبطا تساهميا مع بروتين الإنزيم وذلك برابطة أميد بين مجموعة الكربوكسيل فى البيوتين ومجموعة الأمينو إيسيلون (ε - NH2) للحمض الأمينى لايسين فى المركز النشط للإنزيم

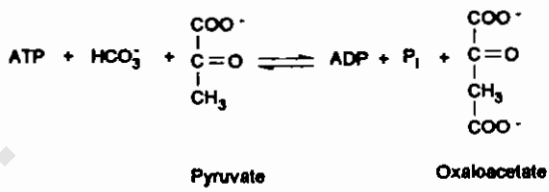




شكل ٨ ـ ١٥
البيوتين، والبيوتين مرتبطا ببروتين الانزيم.

يعمل البيوتين كحامل لمجموعة كربوكسيل منشّطه فى عدد من التفاعلات الإنزيمية التى تقوم بادماج مجموعة كربوكسيل فى بعض المركبات وذلك باستخدام البيكربونات

كعامل كربكسله. وقد تم التعرف على خمسة من هذه التفاعلات التى وجد أنها تحتاج إلى أدينوزين ثلاثى الفوسفات كعامل مُنشِّط. ومن أمثلة هذه التفاعلات تفاعل إدماج مجموعة الكربوكسيل فى البيروفات pyruvate وتحويلها إلى اوكسالواسيتات Oxaloacetate تحت حفز إنزيم Pyruvate carboxylase.



وتتم تفاعلات إدماج مجموعة الكربوكسيل فى خطوتين

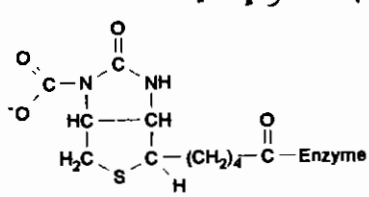
$$\text{Enzyme - biotin} + \text{ATP} + HCO_3^- \rightleftharpoons \text{Enzyme - biotine} \sim CO_2 + \text{ADP} + P_i$$

$$\text{Enzyme - biotine} \sim CO_2 + \text{Pyruvate} \rightleftharpoons \text{Enzyme - biotine} + \text{Oxaloacetate}$$

فى الخطوة الأولى ترتبط مجموعة الكربوكسيل بذرة النتروجين الأولى (N-1) فى البيوتين المرتبط بالإنزيم وتصبح مجموعة الكربوكسيل منشّطة فى هذا المركب الوسيط، فالتغير فى الطاقة الحرة القياسية (ΔG°) لتحلل المركب الوسيط تساوى ـ٤,٧ كيلو سعر/ مول

$$\text{Enzyme - biotine} \sim CO_2 + H^+ \rightarrow CO_2 + \text{Enzyme - biotine}$$

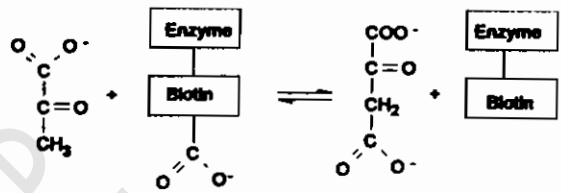
وهذا يسمح للمركب الوسيط بنقل مجموعة الكربوكسيل إلى جزئ مستقبل بدون الحاجة إلى تزويد التفاعل بطاقة حرة إضافية.



المركب الوسيط : كربوكسى بيوتين – إنزيم

Carboxybiotine - enzyme

تنتقل بعد ذلك مجموعة الكربوكسيل المنشّطة من البيوتين إلى البيروفات ليتكوّن أوكسالواسيتات. والوصلة الطويلة المرنة بين البيوتين والإنزيم تسمح بدوران البيوتين عن أحد المواضع النشطة فى الإنزيم (موضع ATP ـ بيكربونات) إلى الموضع الآخر (موضع البيروفات)



Pyruvate Oxaloacetate

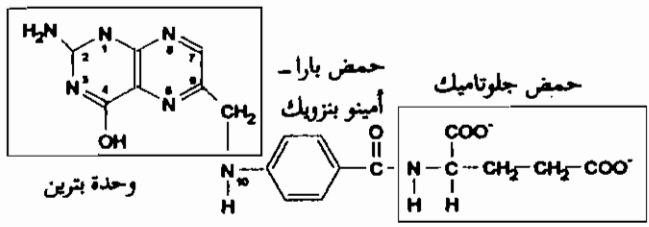
رباعى هيدروفولات يعمل كحامل لوحدات منشّطة أحادية الكربون ذواتى مستويات اكسدة مختلفة

رباعى هيدروفولات tetrahydrofolate (THF , FH_4) (شكل ٨ ـ ١٦) هو الصورة النشطة لفيتامين حمض الفوليك Folic acid (F)، ويعمل كحامل متعدد القدرات لوحدات منشّطة أحادية الكربون. يتحول حمض الفوليك إلى رباعى هيدروفولات باختزاله إنزيميا فى الأنسجة.

حمض الفوليك Folic Acid

اشتق إسم حمض الفوليك Folic Acid من الكلمة اللاتينية Folium والتى تعنى ورقة leaf حيث أنه فصل أول مرة من أوراق نبات السبانخ

ترتبط المجموعة أحادية الكربون المنقولة بذرة النتروجين الخامسة أو العاشرة (يرمز إليها N^5 و N^{10}) فى المرافق الإنزيمى أو بكليهما. هذه الوحدات يمكن أن توجد فى حالات أكسدة ثلاثة (جدول ٨ ـ ٣). الصورة الأكثر اختزالا هى مجموعة الميثايل والصورة ذات حالة التأكسد المتوسطة هى مجموعة ميثلين، بينما الصور الأكثر تأكسداً تشمل مجموعات ميثينايل وفورمايل وفورم إيمينو.



شكل ٨ ـ ١٦

حمض الفوليك. فى رباعى هيدروفولات تُختزل الروابط المزدوجة بين الذرات رقم ٥ و ٦ وبين الذرات ٧ و ٨ بإضافة ٤ ذرات هيدروجين.

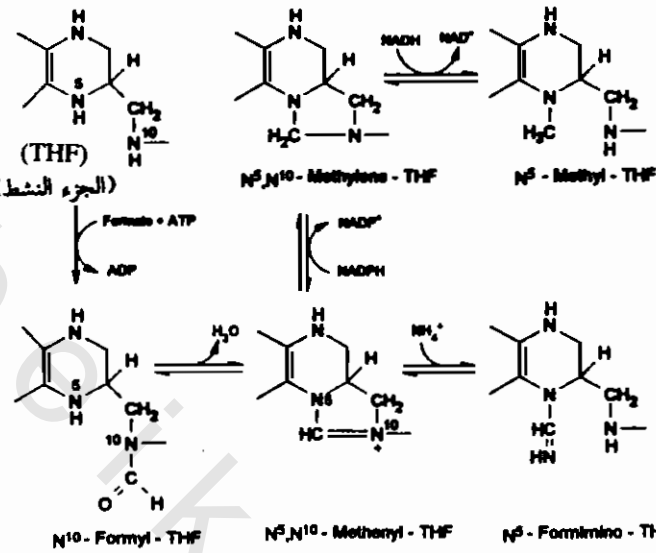
جدول ٨ ـ ٣

المجموعات الكيميائية الأحادية التى تُحمل بواسطة رباعى هيدروفولات

حالة التأكسد	المجموعة الكيميائية
حالة اختزال قصوى	CH_3 ـ ميثايل
حالة تأكسد متوسطة	CH_2 ـ ميثلين
حالة تأكسد قصوى	CHO ـ فورمايل
	CHNH ـ فورم ايمينو
	CH = ـ ميثينايل

والكيفية التى يتم بها نقل هذه المجموعات فى الخلايا معقدة نسبيا ولكنها تشمل أولا تنشيط حمض الفورميك بارتباطه مع رباعى هيدروفولات (THF) عند ذرة النتروجين العاشرة (N^{10}) فى وجود ATP وتكوين N^{10} - Formyl - THF (شكل ٨ ـ ١٧)، ثم تُقفل الحلقة بتكوين رابطة مع ذرة النتروجين الخامسة تحت حفز إنزيم cyclohydratse- ويتكون N^5 N^{10} - methenyl - THF. ويتم اختزال المركب الأخير بواسطة NADPH ليعطى N^5 , N^{10} - methylene - THF الذى يتحول بدوره إلى N^5 - methyl - THF فى خطوة إختزال أخرى.

تعمل مشتقات رباعى هيدروفولات كمعطيات لوحدات كيميائية أحادية الكربون



شكل ٨ ـ ١٧

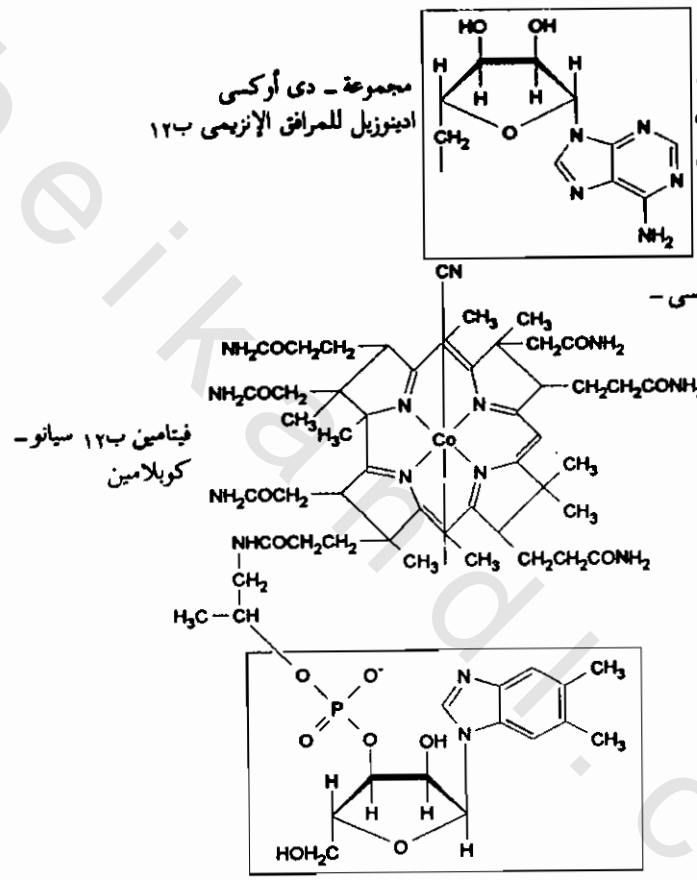
التحولات الداخلية لمشتقات المرافق الإنزيمى رباعى هيدروفولات (THF).

فى تفاعلات إبتناء حيوى مختلفة. فيتكون الميثيونين من هوموسستين بنقل مجموعة الميثايل من N^5 - methyl - THF، وبعض ذرات الكربون فى البيوريـنات تشتـق من N^5 - Formyl - THF و N^5 , N^{10} - methenyl - THF كما يعمل رباعى هيدروفولات كمستقبل لوحدات أحادية الكربون فى تفاعلات الانحلال. وأهم مصادر الوحدات أحادية الكربون هى تحوُّل سيرين إلى جليسين والذى يكوِّن N^5 - methylene- THF و N^5.

المرافقات الإنزيمية لفيتامين ب١٢ تعمل فى تفاعلات إعادة الترتيب الداخلى للجزيئات وفى تفاعلات الميثلة

يعتبر كوبالامـين cobalamine (فيتامـين ب١٢، vitamin B_{12}) ـ وهو أكثر الفيتامينات تعقيداً فى تركيبه ـ من أهم مشاكل التحدى فى مجال الكيمياء الحيوية والطب، منذ أن اكتشف جورج مينوت ووليام مارفى فى عام ١٩٢٦ انه يمكن معالجة مرض الأنيميا الخبيثة بتغذية المرضى على كميات كبيرة من الكبد. أمكن تنقية الفيتامين وتحضيره فى صورة بللورية عام ١٩٤٨، كما تمكن دورثى هودكن عام

١٩٥٦ من التعرف على تركيبة الكيميائى. وفيتامين ب١٢ الذى يوجد فقط فى الحيوانات والكائنات المجهرية دون النباتات، يوجد كجزء من المرافق الإنزيمى الذى يعرف بالمرافق الإنزيمى ب١٢ (شكل ٨ ـ ١٨). ففى المرافق الإنزيمى تستبدل



فى صورة المرافق الإنزيمى لفيتامين ب١٢ والذى يطلق عليه أدينوزيل كوبالامين (أيضا المرافق الانزيمى ب١٢) فإن مجموعة السيانو تستبدل بواسطة مجموعة ٥ ـ دى اوكسى ـ أدينوزيل

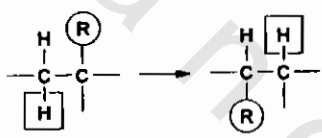
شكل ٨ ـ ١٨

فيتامين ب١٢ وصورة المرافق الإنزيمى له

مجموعة السيانو المرتبطة بذرة الكوبالت بوحدة ٥ ـ دى اوكسى أدينوزين التى ترتبط بذرة الكوبالت عن طريق ذرة الكربون الخامسة فى سكر الريبوز. والصور الأخرى للفيتامين تحتوى على الماء (كوبلامين المائى)، أو مجموعة هيدروكسى (هيدروكسى كوبالامين) فى موضع مجموعة السيانو.

تشمل التفاعلات الأنزيمية التى تعتمد على المرافق الإنزيمى ب١٢ نوعين (١) التفاعلات التى تشمل إعادة الترتيب الداخلى للجزئ و (٢) تفاعلات الميثلة التى يتم فيها إدماج مجموعة ميثايل فى المادة الخاضعة.

فى تفاعلات إعادة الترتيب الداخلى للجزئ يحدث تبادل لمجموعتين كيميائيتين مرتبطتين بذرتى كربون متجاورتين (شكل ٨ ـ ١٩). فتنتقل ذرة هيدروجين إلى ذرة الكربون المجاورة وفى نفس الوقت تنقل مجموعة كيميائية (R) فى الاتجاه العكسى. والمجموعة الكيميائية R قد تكون مجموعة الكايل، هيدروكسى، كربوكسيل، أمينو أو كربون مستبدل. ومن أمثلة تفاعلات إعادة الترتيب تحوُّل L - ميثايل مالونايل مرافق إنزيمى (L-methylmalonyl CoA)A إلى سكسنايل مرافق إنزيمى (Succinyl CoA)A وتحول حمض الجلوتاميك glutamic acid إلى حمض β- ميثايل اسبارتيك β-methylaspartic acid شكل (٨ ـ ٢٠).

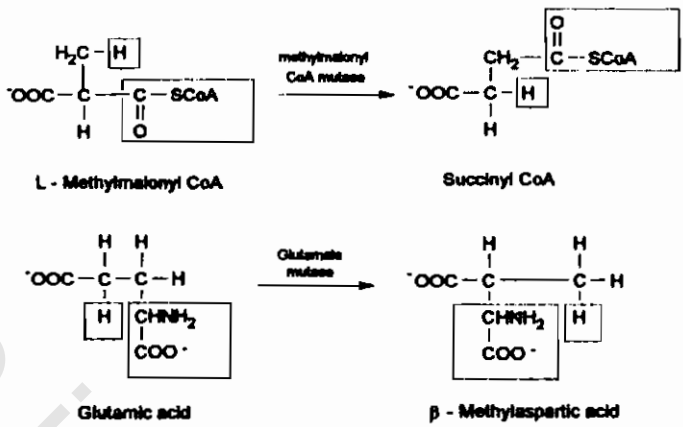


شكل ٨ ـ ١٩

تفاعل إعادة الترتيب الداخلى للجزئ الذى يُحفز بالإنزيمات التى تستخدم المرافق الإنزيمى ب١٢. المجموعة R قد تكون مجموعة الكايل alkyl، مجموعة هيدروكسى، مجموعة كربوكسيل مجموعة أمينو أو كربون مستبدل.

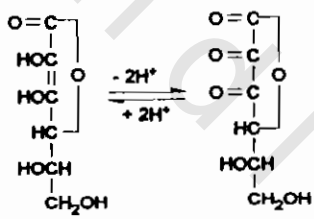
الوظيفة البيولوجية لحمض الاسكوربيك ليست معروفة على وجه التحديد

بالرغم من أنه منذ عام ١٧٩٠ قد عُرف أن عصائر الموالح تحتوى على عامل يمنع مرض الأسقربوط scurvy، فإن هذا العامل لم يفصل ويتعرف على تركيبه إلا فى عام ١٩٣٣. هذا العامل المانع لمرض الاسقربوط وجد أنه حمض الاسكوربيك (فيتامين ج) (شكل ٨ ـ ٢١). النباتات والحيوانات ما عدا خنازير غينيا ورتبة الرئيسيات Primates بما فيها الانسان يمكن أن تبنى حمض الاسكوربيك من D- جلوكوز. بينما تفتقد رتبة الرئيسيات وخنازير غينيا إنزيم L - gulonoxidase الذى يشترك فى أحد خطوات تحويل



شكل ٨ ـ ٢٠

الجلوكوز إلى حمض الاسكوربيك، وبذلك يجب أن يحتوى غذاء هذه الكائنات على الفيتامين. وليس من المعروف على وجه التحديد الدور البيولوجى لحمض الاسكوربيك بالرغم من معرفة إمكان دخوله فى عدة تفاعلات اكسدة واختزال (شكل ٨ ـ ٢٠).



شكل ٨ ـ ٢١

حمض الاسكوربيك (فيتامين ج) وناتج اكسدته حمض ديهيدرواسكوربيك

ويعتقد أن حمض الاسكوربيك يعمل كعامل مساعد فى التحول الإنزيمى للبرولين إلى ٤ ـ هيدروكسى برولين الذى يوجد فى بروتين الكولاجين. وبالرغم من أنه يبدو أن لحمض الاسكوربيك دور فى تكوين الكولاجين والمحافظة عليه وهو أحد عناصر الأنسجة الضامة فى الحيوانات الراقية، فليس من المؤكد ما إذا كانت هذه هى وظيفته الوحيدة أو حتى الأساسية له.

أيونات المعادن تعمل كعوامل مساعدة لبعض الإنزيمات

تشترك أيونات المعادن فى عدد كبير من العمليات البيوكيميائية، وهناك تقدير بأن ثلث الإنزيمات المنتشرة فى الانظمة الحية تحتاج إلى أيون معدنى فى طور أو أكثر من عملية الحفز الإنزيمى. فتقوم أيونات المعادن بتنظيم الحفز الإنزيمى إما عن طريق ربط المادة المتفاعله بالمركز النشط للإنزيم، أو بالمحافظة على الهيئة البنائية اللازمة لنشاط الإنزيم. إضافة إلى ذلك فإن بعض الأيونات المعدنية قد تشترك مباشرة فى عملية الحفز الإنزيمى بالعمل كحاملات للالكترونات أو لمجموعة كيميائية أخرى.

يمكن التمييز بين نوعين من الإنزيمات التى تحتاج إلى أيونات المعادن لنشاطها: الإنزيمات المعدنية والإنزيمات المنشّطة بالمعادن. تحتوى الإنزيمات المعدنية على كمية مولارية ثابتة من المعدن الذى يرتبط بقوة بالإنزيم وهو بذلك يعتبر أحد المكونات البنائية للإنزيم، ويقوم المعدن فى هذه الحالة إما بوظيفة بنائية أو كحامل للالكترونات فى تفاعلات الاكسدة والاختزال. وتشمل المعادن التى تدخل فى تركيب الإنزيمات المعدنية الحديد، النحاس، الزنك، الكوبالت، المنجنيز والمغنسيوم.

فى الإنزيمات المُنشّطة بواسطة المعادن يكون أيون المعدن فى حالة إتزان مع المجموعة التعويضية على سطح الإنزيم، وبذلك يمكن فصله من الإنزيم الذى يفقد نشاطه ولكن يستعيد الإنزيم نشاطه بإضافة أيون المعدن. فى هذا النوع من الإنزيمات لا يكون أيون المعدن متخصصا بدرجة كبيره حيث يمكن استبدال أيون المعدن الحقيقى بأيون معدنى آخر مع احتفاظ الإنزيم بنشاطه.

المراجع

Boyer, P. D., H. Lardy and K. Myrback (eds.) : The Enzumes, 3rd ed., 14 vols., Academic Press New York, 1970 - 1981.

Florkin, M., and E. H. Stotz (eds.) : Comprehensive Biochmistry, vol. 21, Metobolism of vitamins and Trace Elements, American Elsevier, New York., 1971.

Harris, E. S., ed. : Vitamins and Hormones, New York, Academic Press, 1979.

Hytchinson, D. W. : Nucleotides and coenzymes, Wiley, New York, 1973.

Jencks, W. P. : Cataysis in Chemistry and Enzymology, McGraw - Hill, New York, 1969.

Lehninger, A. L. : Principles of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

Walsh, C. T. : Enzymatic Reaction Mechanisms, Freeman, San Francisco, 1977.

Zubay, G. (coord. author) : Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass, 1983.

obeikandl.com

obeikandl.com

تمارين

١ ـ ما هى الخصائص التركيبية المشتركة بين ATP و FAD و NAD^+ و CoA.

٢ ـ ما هى السمات المشتركة بين حمض الليبويك، والمرافق الإنزيمى لحمض فوسفوبانتوثينك.

٣ ـ فى كل من التفاعلات الإنزيمية التالية حدد المرافق الإنزيمى المشترك فى التفاعل