الكيمياء الحيوية 1

البروتينات

Proteins

الدكتورة

راما حسين ابراهيم

البروتينات : البنية ثلاثية الأبعاد والوظيفة

Proteins : Three dimensional structure and function

إن البروتين كوصف بسيط ومبدئي هو عبارة عن ارتباط مجموعة من الحموض الامينية بروابط ببتيدية بترتيب معين. ولكن بنية البروتينات ليست بسيطة خطية، حيث تلتف السلسلة الببتيدية على بعضها لتأخذ شكل فراغي معين هو المسؤول عن الوظيفة النوعية لكل بروتين.

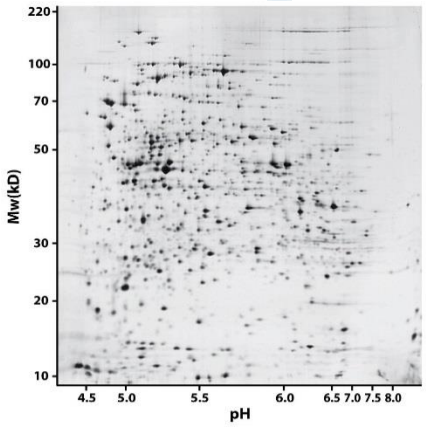
حالياً تم تحديد البنية ثلاثية الأبعاد أو ما يسمى الهيئة conformation لعدد كبير من البروتينات. **تعرف الهيئة (التشكل) conformation** بأنه التوزع المكاني للذرات الذي يعتمد على دوران رابطة ما أو عدة روابط ضمن الشكل الفراغي للمركب. وبالتالي يمكن أن يتغير conformation لبروتين ما في الفراغ بدون كسر روابط ضمن البروتين. أما **التهايؤ المطلق configuration** فهو توزع فراغي مختلف لذرات الجزيء، غالبا للانتقال من أحدها لآخر فإننا بحاجة لكسر رابطة أو عدة روابط ضمن الجزيء، مثل المماكبات الميمنة والميسرة للحموض الامينية التي درست سابقاً.

نظرا لأن البروتين يحتوي عدد كبير من الاحماض الامينية وكل حمض أميني له عدة هيئات conformations ناتجة عن دوران الروابط ضمنه، فإن البروتين له عدد كبير جدا من الهيئات المحتملة. ولكن في الواقع ضمن الظروف الفيزيولوجية في العضوية فإن أغلب البروتينات تأخذ هيئة فراغية conformation معينة تكون أكثر ثباتا من باقي الاشكال، تدعى **التشكل الأصلي للبروتين Native conformation of protein**.

توجد عدة عوائق تمنع دوران الروابط في هذا الشكل الفراغي الوحيد للبروتين، أهمها الروابط الهيدروجينة وغيرها من الروابط الضعيفة بين الحموض الأمينية. ومن البديهي أن وظيفة البروتين تعتمد على الشكل الأصلي له أو مايسمى بالشكل ثلاثي الابعاد للبروتين.

قد يتكون البروتين من سلسلة عديد ببتيد وحيدة أو من عدة سلاسل ترتبط ببعضها بروابط ضعيفة. وكقاعدة عامة فإن كل سلسلة عديد ببتيد يرمز لها بمورثة واحدة.

يختلف حجم البروتينات كثيرا من بروتين لاخر فهناك بروتينات تحتوي 100 حمض أميني وهناك بروتينات أخرى تحتوي 2000 حمض أميني.



بالاضافة إلى التنوع في حجم البروتينات، فإن هناك تنوع كبير في شكل ووظيفة هذه البروتينات. على سبيل المثال في بكتريا الاشرشيا الكولونية *Escherichia coli* يوجد حوالي 4000 بروتين مختلف. يوضح الشكل المجاور تفريق بروتينات الاشرشيا كولي على هلامة الرحلان ثنائي

الابعاد حيث تهاجر البروتينات عليه حسب حجمها وحسب درجة pH المناسبة لها تبعا لشحنتها وبالتالي فان كل نقطة تمثل بروتين معين.

لدى حشرة الدروسوفيليا *Drosophila melanogaster* يوجد حوالي 14000 بروتين مختلف، أما لدى الحيوانات الارقى ومنها الثديات و الانسان تم تحديد حوالي 20000 بروتين مختلف.

يدعى العلم الذي يهتم بدراسة عدد كبير من البروتينات الموجودة في حيز ما **بعلم دراسة البروتينات Proteomics** (مثلا دراسة مجمل البروتينات الموجودة في خلية ما).

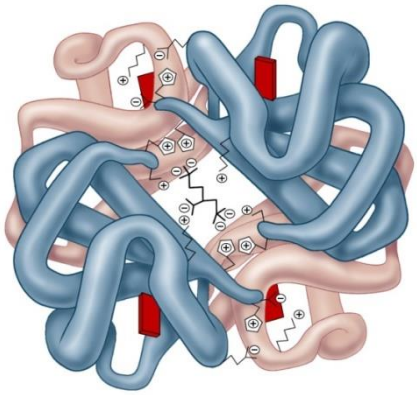
إذا يوجد تنوع كبير في البروتينات التي تؤدي وظائف مختلفة في العضوية. وكما قلنا إن وظيفة البروتين تعتمد بشكل اساسي على شكله ثلاثي الابعاد أو conformation، إذا هناك تنوع في اشكال البروتينات.

- **يمكن تصنيف البروتينات حسب شكلها إجمالا إلى بروتينات كروية globular proteins و بروتينات ليفية Fibrous proteins.**

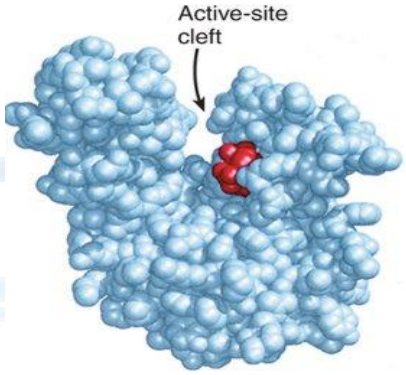
a. البروتينات الكروية Globular proteins:

هي عبارة عن بروتينات حلولة في الماء شكلها كروي تقريباً Roughly spherical، تكون سلاسلها الببتيدية مطوية بقوة Tightly folded لإعطائها الشكل الكروي المضغوط. ونظراً لكونها حلولة في الماء، فإن داخل الكرة يكون كاره للماء وسطحها محب للماء .

تكون معظم البروتينات الوظيفية من النوع الكروي مثل الأنزيمات والبروتينات المنظمة Regulatory proteins. تستطيع هذه البروتينات الارتباط بشكل مؤقت مع جزيئات صغيرة في العضوية لتؤدي دورها البيولوجي. فمثلا، تحتوي الانزيمات على شق يدعى الموقع الفعال يسمح بارتباط الركازة لانجاز تفاعل ما، كما أن الهيموغلوبين يسمح بارتباط الاوكسجين بشكل مؤقت ونقله الى خلايا الجسم المختلفة.



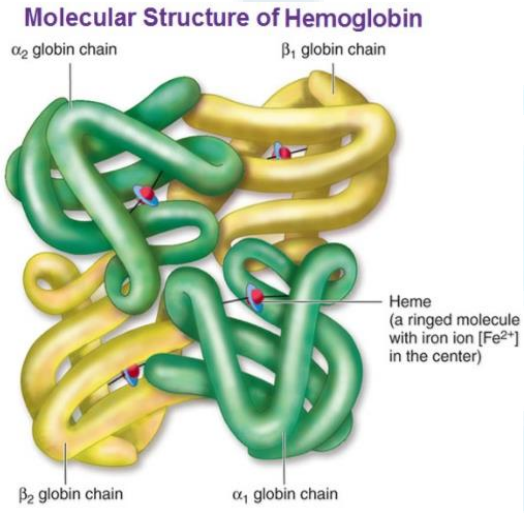
Haemoglobin molecule



Enzyme molecule

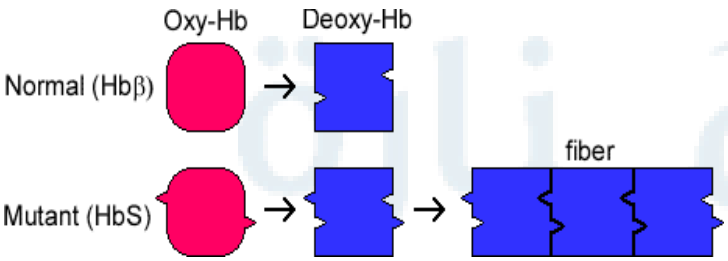
مثال عن البروتينات الكروية: بروتين الهيموغلوبين Haemoglobin

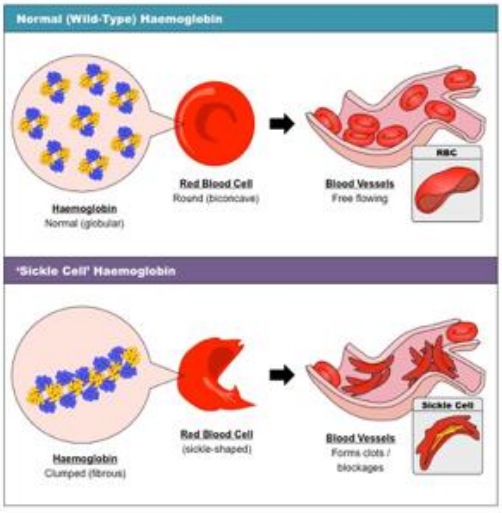
يتواجد هذا البروتين في كريات الدم الحمراء ويلعب دور ناقل للأوكسجين في الدم. يتألف من جزء بروتيني رباعي تحت الوحدات tetrameric protein (2a2b), وتحتوي كل تحت وحدة على حلقة هيم هي المسؤولة عن ربط الأوكسجين. إذاً يستطيع كل جزيء هيموغلوبين ربط 4 جزيئات أوكسجين.



إن أي تغير في بنية البرويتن (حتى لو كان التبدل في حمض أميني واحد) سيؤدي إلى خلل في وظيفة البروتين.

مثال: حالة فقر الدم المنجلي sickle cell anemia (HbS): إن استبدال الحمض الأميني السادس في السلاسل b (حمض الغلوتاميك) بحمض أميني آخر (الفالين), يؤدي إلى الحصول على بروتين شاذ قابل للتكدس بشكل سلاسل مما يؤدي إلى تغير شكل الكريات الحمراء إلى الشكل المنجلي.

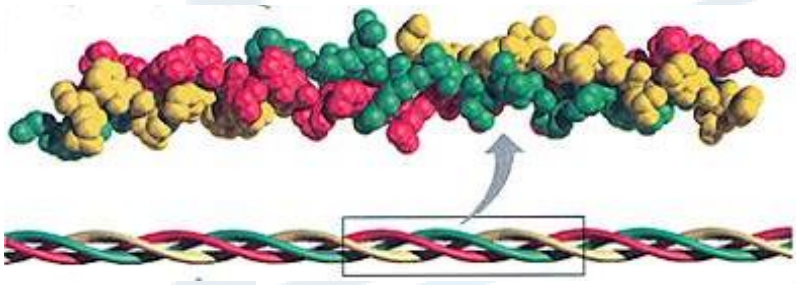




b. البروتينات الليفية Fibrous proteins:

وهي عبارة عن بروتينات بنيوية Structural، تؤدي وظيفة دعم ميكانيكي Mechanical support للخلية أو العضية. غالبا ترتبط مع بعضها بشكل خيوط threads أوكابلات طويلة large cables لتدخل في تركيب بنى معينة في الخلية.

من أمثلتها، ألفا-كيراتين α-keratin البروتين الرئيسي المشكل للشعر والاظافر، والكولاجين Collagen الذي يدخل في تركيب الاوتار والجلد والاسنان والعظام.

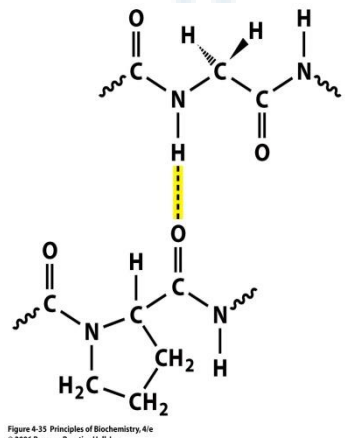


Collagen molecule

مثال عن البروتينات الليفية: بروتين الكولاجين Collagen

البروتين الرئيسي في الأنسجة الضامة (الأوتار، الغضاريف...) والعظام والأسنان. يختلف شكله بحسب مكان تواجده في الجسم.

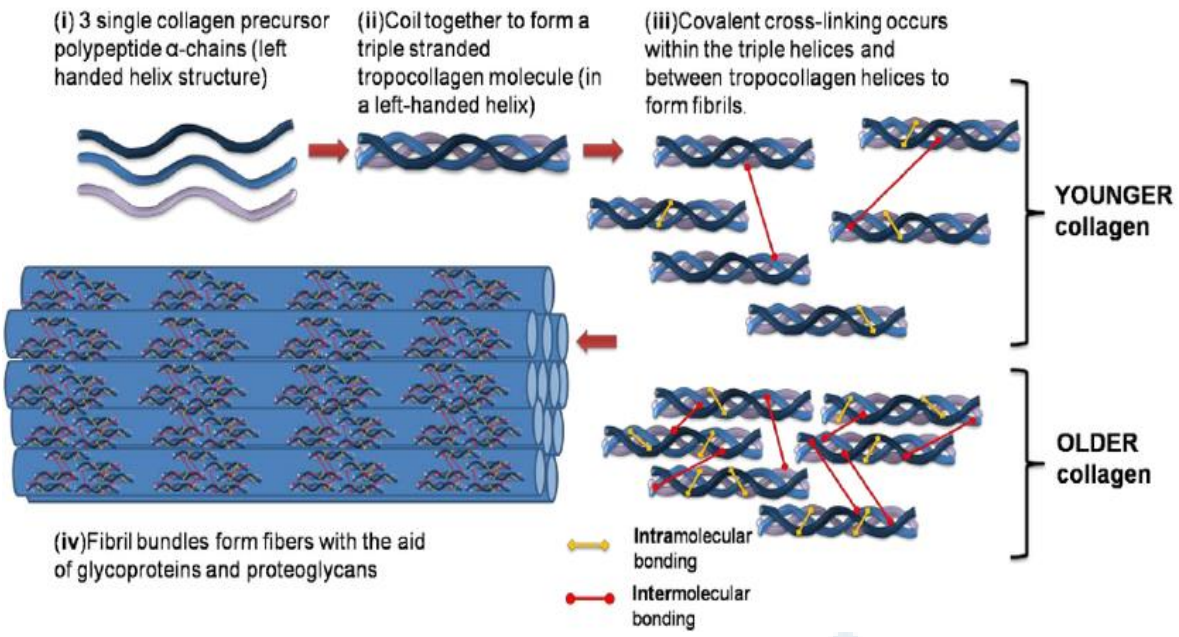
يتألف الشكل الأكثر شيوعاً من ثلاث سلاسل ببتيدية تلتف كل منها بشكل حلزون ميسر Left-handed، وتعود وتلتف على بعضها بشكل حلزون ميمين Right-handed. يتألف كل منها من تكرارات لثلاث حموض أمينية Gly X- Y –، حيث أن X غالباً هو Pro و Y هو غالباً هيدروكسي برولين (حوالي نصف الكولاجين الموجود في الجسم يكون غنياً بالهيدروكسي برولين (12%)). يمكن أن تحتوي جزيئات الكولاجين أيضاً على حمض أميني من نوع هيدروكسي ليزين OH-Lys. يتشكل كل من الهيدروكسي برولين والهيدروكسي ليزين انطلاقاً من البرولين والليزين على التوالي بعد اندماجهما في السلسلة الببتيدية من خلال عملية هدركسلة Hydroxylation بواسطة أنزيم هيدروكسيلاز، ويحتاج هذا التفاعل إلى فيتامين C (حمض الأسكوربيك) لإتمامه.



تتثبت بنية الكولاجين بشكل أساسي بواسطة روابط هيدروجينية داخل جزيئية Intramolecular بين الحلزونات الثلاثة، حيث تتشكل بين الهيدروجين الأميني للغليسين من سلسلة مع الأوكسجين الكربونيلي للحمض الأميني X من السلسلة المقابلة.

يساهم أيضاً الهديروكسي ليزين في تثبيت بنية الكولاجين من خلال تشكيل روابط تساهمية قوية Covalent cross-link داخل جزيْ الكولاجين نفسه Intramolecular (بين السلاسل الثلاث)، وبين جزيئات الكولاجين المتجاورة Intermolecular.

في حال عوز فيتامين C، ستختل عملية الهدركسلة لليزين مما سيؤدي إلى اختلال اندماج سلاسل الكولاجين الثلاثية، واختلال الترابط بين جزيئات الكولاجين المتجاورة ممايؤدي إلى زعزعة بنية الكولاجين (مرض الاسقربوط).



❖ **يمكن أيضاً تصنيف البروتينات بحسب وظيفتها إلى الأنواع التالية:**

1- المحفزات catalyses: مثل الأنزيمات التي تحفز تقريبا جميع التفاعلات الكيميائية الحيوية في الخلية.

2- في النقل والتخزين: مثل المايوغلوبين الذي يلعب دور في تخزين الاوكسجين في العضلات ويعطي للخلايا العضلية اللون الاحمر، والهيموغلوبين الذي يتواجد في كريات الدم الحمراء والذي يساعد في نقل الاوكسجين و ثاني اكسيد الكربون من وإلى أنسجة الجسم.

3- البروتينات البنائية: التي تلعب دور في دعم الخلية واعطائها شكلها مثل التوبولين Tubulin والاكتين Actin والكولاجين.

4-بروتينات تلعب دور ميكانيكي في الخلية: مثل البروتينات المسؤولة عن تقلص العضلات، والبروتينات التي تساهم في حركة الخلية مثل السياط في النطاف المكونة من نبيبات ميكروية Microtubules، والبروتينات التي تشكل مغزل الانقسام اثناء انقسام الخلية من أجل المساعدة على تفريق الكروموزومات.

5- البروتينات التي تلعب دور في عمليات النسخ والترجمة للمورثات: مثل البروتينات التي تتدخل في عملية التعبير الجيني من خلال ارتباطها بالحموض النووية.

6- الهرمونات التي تلعب دور في تنظيم العمليات الكيميائية الحيوية في خلايا معينة.

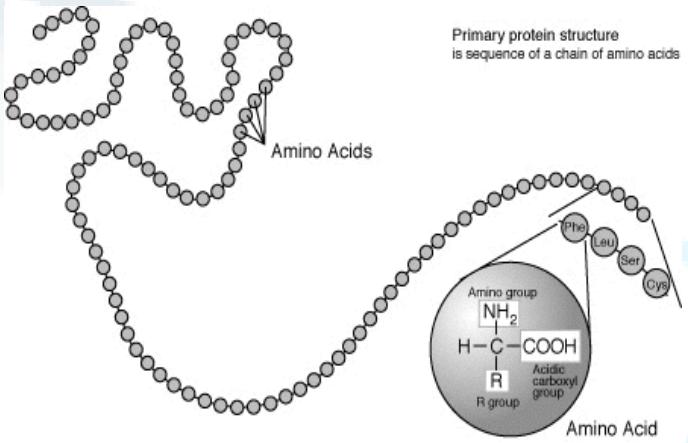
7- مستقبلات على سطح الخلية تساعد على تحفيز الخلية أو قنوات تساعد على تمرير الشوارد والمواد الغذائية لداخل الخلية.

8- بروتينات تلعب دور وظيفي محدد جدا مثل الاضداد التي تلعب دور في حماية الخلية ومواجهة العوامل الممرضة.

من أجل فهم أفضل لوظيفة البروتينات لابد من دراستها على مستوى البنية.

يوجد أربع مستويات لبنية البروتين Four levels of protein Structure

١. **البنية الأولية Primary structure:** هي عبارة عن سلسلة خطية عديدة ببتيد، مكونة من حموض أمينية مرتبطة ببعضها البعض بروابط ببتيدية (روابط تساهمية) ضمن ترتيب معين.



بالرغم من اهمية البنية الأولية للبروتين، إلا أنها لاتكفي للحصول على بروتين وظيفي، وإنما يجب أن يأخذ البرويتن مستويات أعلى من البنية لتشكيل الشكل ثلاثي الابعاد الذي يعطي لكل بروتين وظيفته الخاصة. يتم منح الشكل ثلاثي الأبعاد للبروتين من خلال البنى الثانوية والثالثية والرابعية، وتكون القوى المسؤولة عن ثبات هذه المستويات الثلاثة من النوع اللاتساهمي non-covalent .

٢. **البنية الثانوية Secondary structure:** تشير إلى انتظام في التشكل الفراغي للسلسلة الببتيدية بواسطة روابط هيدروجينية بين هيدروجين الزمرة الاميدية وأوكسجين الزمرة الكربونيلية في السلسلة الببتيدية.

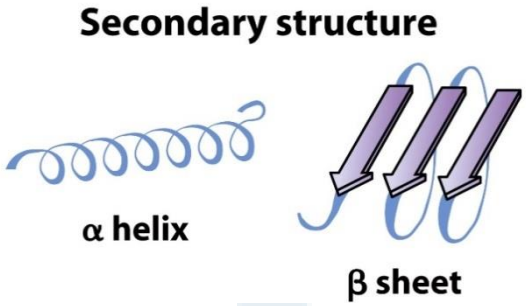
(Hydrogen bonds -N-H--------- O=C-)

تتشكل الروابط الهيدروجينية غالباً بين حموض أمينية قريبة من بعضها وليست متجاورة.

تأخذ البنى الثانوية أحد ثلاث أشكال:

- ✓ **حلزونات ألفا α helices**

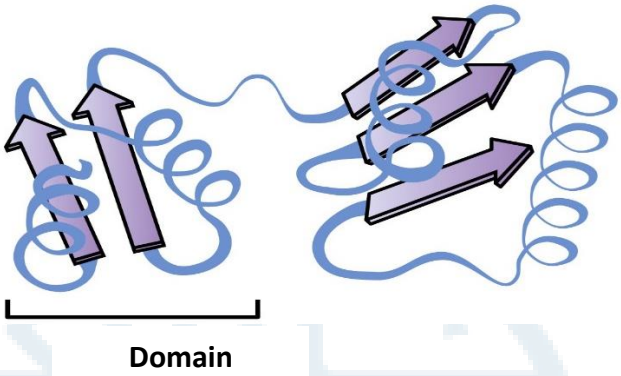
- ✓ شرائط بيتا β strands أو صفائح بيتا β sheets
- ✓ عُرى Loops أو انعطافات Turns



يتم تمثيل الحلزون الفا باشكال حلزونية و الشرائط أوالصفائح بيتا بأسهم مسطحة تتجه من النهاية الامينية إلى النهاية الكربوكسيلية.

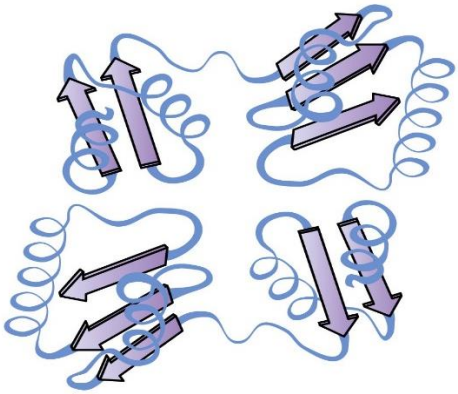
٣. **البنية الثالثية** Tertiary structure:

هي عبارة عن الشكل النهائي الملتف للسلسلة الببتيدية. تتضمن هذه البنية عدة أشكال أو وحدات كروية ترتبط مع بعضها بسلاسل من حموض امينية، يُدعى كل منها ميدان domain. يتم تشكيل البنية الثالثية والمحافظة عليها من خلال روابط لاتساهمية من النوع الكاره للماء بين السلاسل الجانبية للحموض الامينية غير المتجاورة. تسمح هذه البينة بتقريب البنى الاولية والثانوية التي قد تكون بعيدة ضمن السلسلة الببتيدية وتجعلها بشكل متجاور وقريب من بعضها.



٤. **البنية الرابعية Quaternary structure :**

تملك بعض البروتينات بنية رابعية، وهي عندما ترتبط أكثر من سلسلة ببتيدية متماثلة أو مختلفة مع بعضها البعض لتشكيل بنية البروتين الكلية. يكون البروتين بهذه الحالة مكون من عدة تحت وحدات multi-subunit protein، وتكون الروابط غالباً لاتساهمية من النوع الكاره للماء.



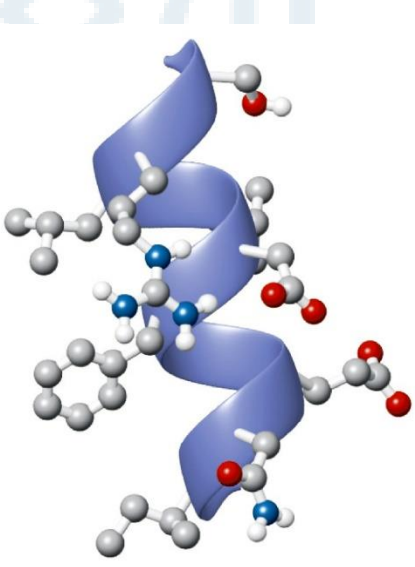
تدعى البروتينات التي تملك بنية رابعية بالبرويتنات الأوليغوميرية Oligomeric proteins، أي التي تملك أكثر من تحت وحدة. فمثلا يُقال أن البرويتن Dimer إذا كان مكون من تحت وحدتين، Trimer إذا كان مكون من 3 تحت وحدات، Tetramer إذا كان مكون من 4 تحت وحدات وهكذا...

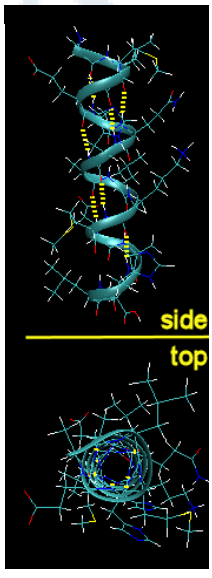
البنى الثانوية للبروتين:

تتضمن البنى الثانوية: الحلزونات α والشرائط β والانعطافات turns.

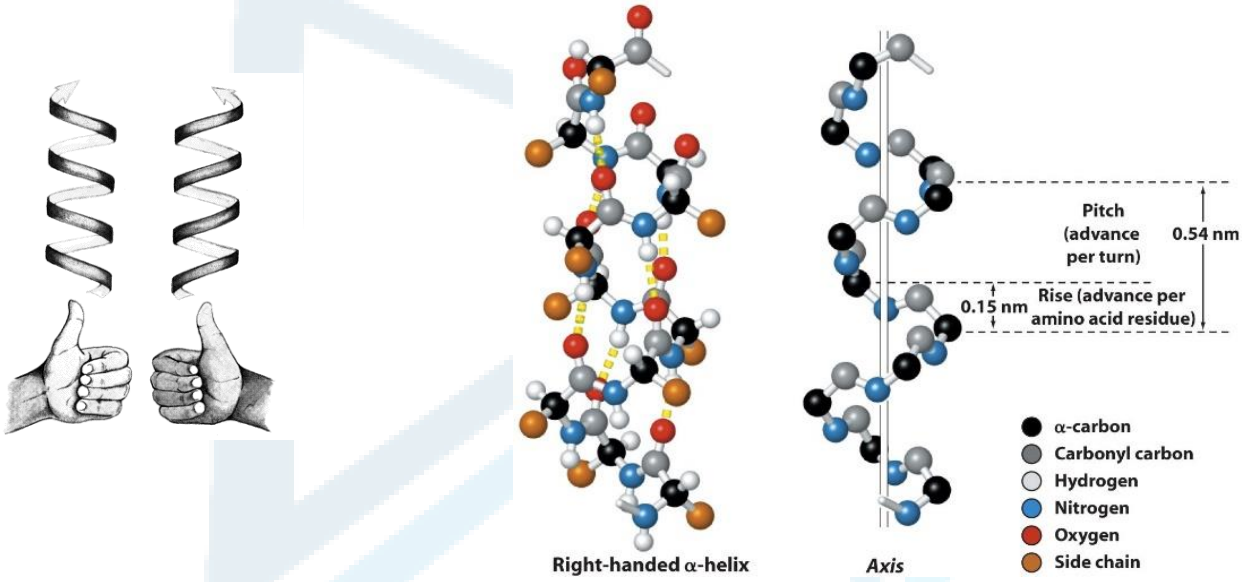
1. الحلزون α (α Helix)

تعتبر الحلزونات α شائعة الوجود في البروتينات الليفية و الكروية على السواء.

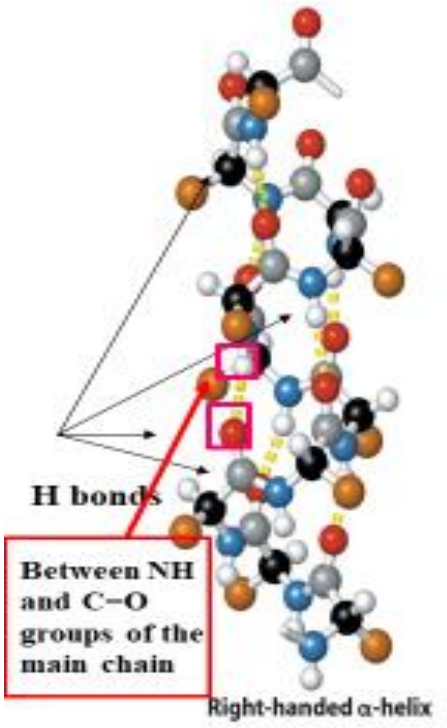




يتألف كل **α helix** من عدة دورات تدعى تكرارات Repeats، تحتوي كل دورة على مايقارب 3.6 حمض أميني ، كما هو موضح في الشكل.



قد يكون الحلزون α يميني أو يساري الدوران، بحسب اتجاه دوران السلسلة البيتيدية في الحلزون باتجاه أصابع اليد اليمني (حلزون ميمين Right-handed) أو أصابع اليد اليسرى (حلزون ميسر Left-handed)، كماهو مبين في الشكل المجاور، **ولكن تقريبا جميع الحلزونات α الموجودة في البروتينات تكون ميمنة.**



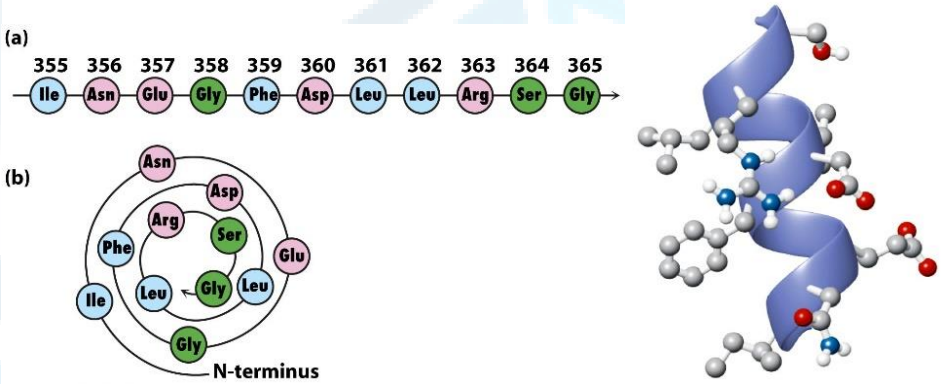
كما قلنا يتم تثبيت الحلزون-α بواسطة روابط هيدروجينية. اذا نظرنا إلى الحلزون من النهاية الامينية في الاسفل باتجاه النهاية الكربوكسيلية في الاعلى سنجد انه تتشكل رابطة هيدروجينية بين **الاوكسجين الكربونيلي لحمض اميني (ن) والهيدروجين الاميدي على بعد أربع أحماض امينية (ن+4).** تكون الروابط الهيدروجينية عادة موازية تقريباً لمحور الحلزون.

تأتي ثباتية بنية الحلزون α من مجموع الروابط الهيدروجينية الموجودة به وليس من تاثير رابطة واحدة فقط، وتعتبر الروابط الهيدروجينية ثابتة خصوصا داخل البروتين الذي يعتبر كاره للماء حيث لاتصل اليها جزيئات الماء وبالتالي لاتدخل جزيئات الماء

بتنافس مع الاحماض الامينية لتشكيل روابط هيدروجينية.

إن العديد من الحلزونات α تعتبر أمفيباثية Amphipathic (أي تملك جزء محب للماء وجزء كاره للماء)، حيث تكون أحد وجوهها حاوية على حموض امينية محبة للماء والوجه المقابل حاوياً على حموض امينية كارهه للماء. هذا مايمكن رؤيته بسهولة عندما نرسم الحموض الامينية المشكلة للحلزون بشكل لولبي، حيث نلاحظ في هذا الشكل (الشكل الأسفل) ان الاحماض الامينية الكارهة للماء موجودة بجهه واحدة من الحلزون، والمحبة للماء في الجهة المقابلة.

عادة ماتتواجد الحلزونات α متقابلة الزمر على سطح البروتين حيث يتوجه السطح المحب للماء ليكون بتماس مع الوسط المائي والوجه الكاره للماء نحو داخل البروتين الكاره للماء.



Amphipatic α-helix

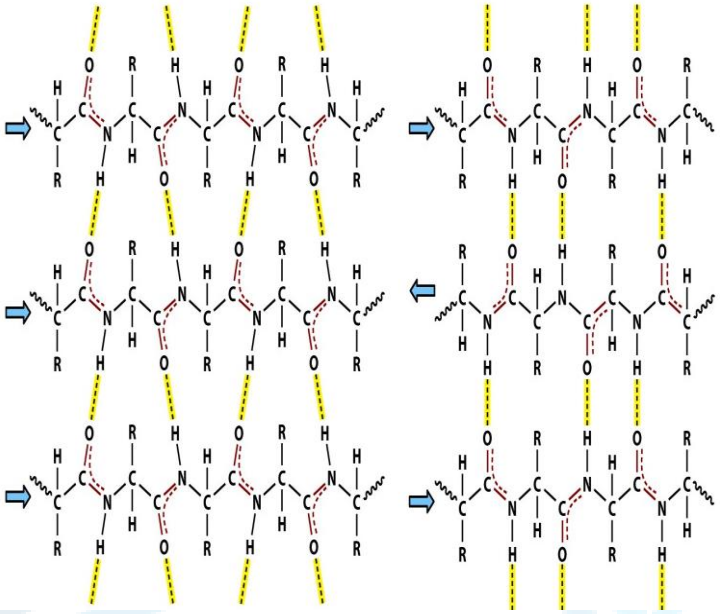
2. الشرائط والصفائح β β Strands and β Sheets

النوع الثاني من البنى الثانوية هي البنى بيتا والتي تتضمن إما شرائط أو صفائح β. الشرائط β هي عبارة عن جزء من السلسلة الببتيدية يكون بشكل ممدود. عندما ترتبط عدة شرائط بيتا متوضعة بجانب بعضها البعض بروابط هيدروجينية يدعى الشكل صفائح بيتا.

نادرا مانرى بنى شرائط بيتا في البروتينات نظرا لكونها لوحدها غير ثابتة. أما بنية الصفائح بيتا تكون أكثر ثباتا نظرا لكونها تشكل روابط هيدروجينية بين الاوكسجين الكربونيلي لشريط بيتا مع الهيدروجين الاميدي لشريط بيتا مجاور. لذلك في البروتينات غالبا مانرى صفائح بيتا وليس شرائط بيتا.

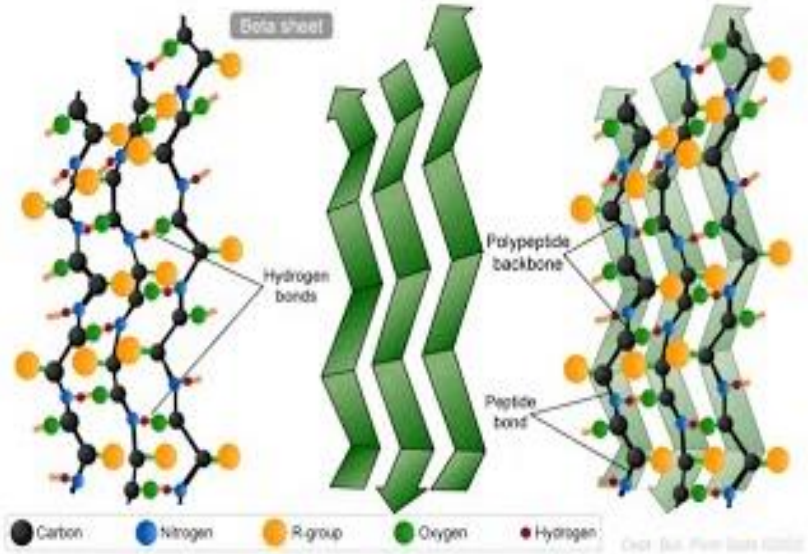
نميز بين نوعين من الصفائح بيتا، متوازية Parallel وفيها تكون الشرائط بيتا المشكلة لها باتجاه واحد من النهاية N- إلى النهاية C، وغير متوازية Antiparallel وفيها تكون الشوائط بيتا باتجاهين متعاكسين، كما هو موضح في الشكل.

Parallel β sheets **Antiparallel β sheets**



عادة ماتكون الصفائح بيتا المتوازية أقل ثباتا من غير المتوازية بسبب كون الروابط الهيدروجينية فيها غير متوازية، حيث أن الاوكسجين الكربونيلي والهيدروجين الاميدي لحمض اميني من سلسلة ما سيشكلان روابط هيدروجينية مع اوكسجين كربونيلي وهيدروجين اميدي لحمضين أمينيين مختلفين في السلسلة المقابلة، في حين ان الراوابط الهيدروجينة في الصفائح بيتا غير المتوازية تكون عمودية على السلاسل الببتيدية، والاوكسجين الكربونيلي والهيدروجين الاميدي لحمض اميني من سلسلة ما سيشكلان روابط هيدروجينية مع اوكسجين كربونيلي وهيدروجين اميدي لحمض اميني واحد فقط في السلسة المقابلة.

عادة ماتسمى الصفيحة بيتا بالصفيحة بيتا المطوية β pleated sheet، وذلك لأن المجموعات الببتيدية تلتقي ببعضها بشكل زاوية مما يعطي لهذه الصفائح شكل الاوكورديون. ونتيجة لهذا الشكل المطوي فإن السلاسل الجانبية للحموض الامينية تتناوب على وجهي الصفيحة إلى أعلى وإلى اسفل الصفيحة.

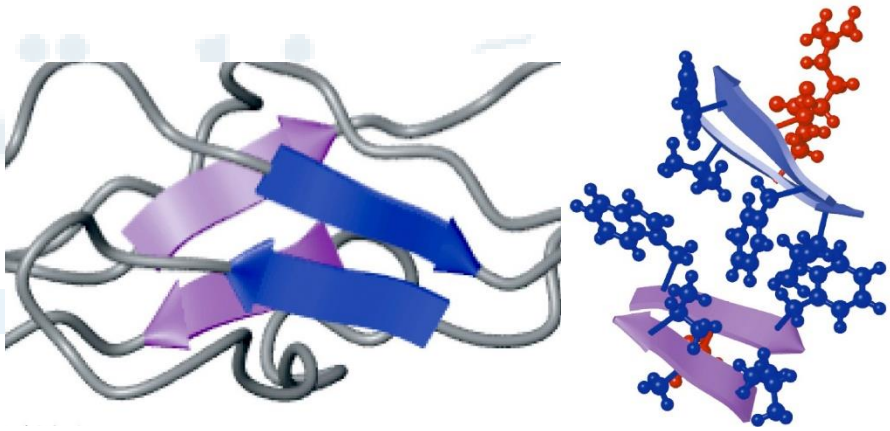


تتكون الصفيحة بيتا عادة من 2 الى 15 شريط بيتا وكل شريط يتكون وسطيا من 6 حموض امينية.

يختلف محتوى البروتينات من الصفائح β فقد تكون بعض البروتينات مكونة بالكامل من الصفائح β وقد تحتوي بروتينات اخرى على عدد قليل من الشرائط β.

بشكل مماثل للحلزونات α الأمفيباثية Amphipathic التي تملك وجهين أحدهما محب للماء والآخر كاره للماء، تكون الصفائح بيتا عادةً أمفيباثية أيضاً، حيث تتناوب السلاسل الجانبية للحموض الامينية على وجهي الصفيحة بحيث تكون الحموض الامينية المحبة للماء بجهة والحموض الأمينية الكارهه للماء بالجهة الأخرى. يتجه الوجه الكاره للماء للصفيحة نحو داخل البروتين الكاره للماء، بينما يتوضع الوجه المحب للماء نحو الخارج باتجاه الوسط المائي المحيط بالبروتين.

قد ترتبط اثنتين من الصفائح بيتا مع بعضهما من جهة الوجه الكاره للماء بروابط لاتساهمية من نوع كارهه للماء مشكلةً نوع من البنى التي **تدعى بيتا ساندويتش β-sandwich**.



من أمثلة البيتا ساندويتش احد البروتينات الموجودة في حبوب الطلع (الشكل في الأعلى) وهو البروتين المسؤول عن تحريض الحساسية لدى الاشخاص الذين لديهم حساسية من حبوب الطلع. نلاحظ ان هذا البروتين يحتوي على اثنتين من الصفائح β كل منهما مكونة من اثنتين من الشرائط β. كل من هاتين الصفيحيتن تحتوي على وجه محب للماء والاخر كاره للماء. وبالتالي ترتبط هاتين الصفيحتين ببعضهما بشكل متقابل من ناحية الجهة الكارهه للماء اما الجهه المحبة للماء فتكون للخارج باتجاه الوسط المائي.

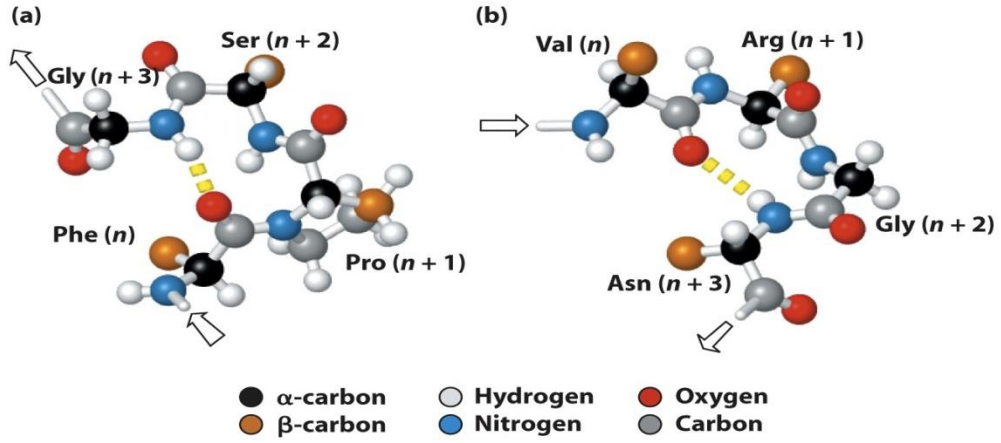
3. العرى Loops والانعطافات Turns:

بالاضافة الى الحلزونات ألفا والشرائط بيتا تملك البنية الثانوية بنى معينة تدعى عقد (عرى) Loops تسمح بربط البنى الثانوية الأخرى ببعضها. تدعى العرى بالانعطافات Turns عندما تغير اتجاه التفاف السلسلة الببتيدية بمقدار 180° بمايسمح لها بالالتفاف على بعضها وتشكيل البنية الثالثية.

إذا العرى والانعطافات تعرف بانها امتدادات غير متكررة من البنية ثلاثية الابعاد للبروتين، وهي **تصنف ضمن البنى الثانوية نظراً لأنه يتم تثبيتها بواسطة روابط هيدروجينة** كما في البنى الثانوية الأخرى. تتشكل الروابط الهيدروجينة في العرى والانعطافات بين الحمض الأميني في موقع (ن) والحمض الاميني في الموقع (ن+3).

إذا ماهي وظيفة العرى والانعطافات؟ تقوم هذه البنى بربط الحلزونات α والشرائط β ببعضها وتسمح للسلسلة الببتيدية بالالتفاف في اكثر من اتجاه مما يسمح للبروتين باخذ شكله ثلاثي الابعاد. وتشكل هذه البنى تقريبا حوالي ثلث البروتين ككل.

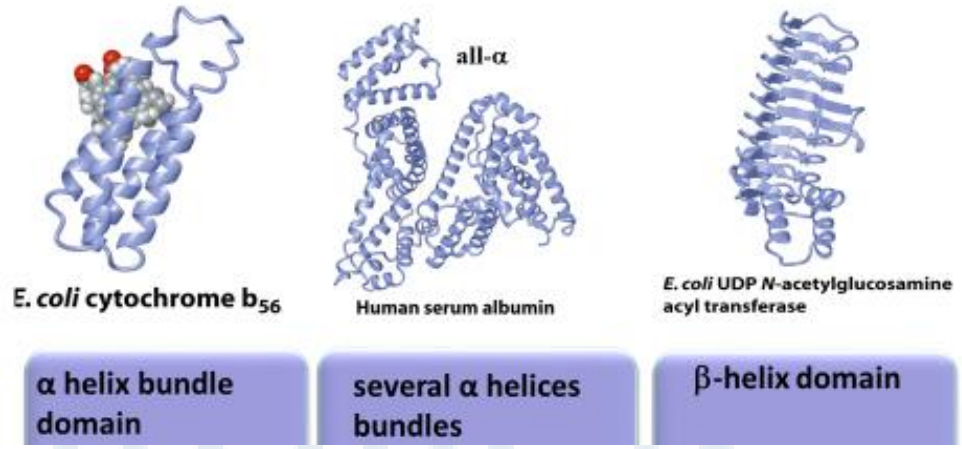
تتشكل العرى عادة من حموض امينية محبة للماء لذلك تتوضع هذه البنى غالبا على سطح البروتين، وتشكل روابط هيدروجينية مع الماء. اذا كانت العروة مكونة من عدد قليل من الحموض الامينية، أقل من 5، فانها تدعى غالباً انعطاف، وخاصةً اذا كانت تسبب تغييرا مفاجئاً في اتجاه السلسلة الببتيدية.



البنية الثالثية للبروتين:

تعرف البنية الثالثية للبروتين بأنها عبارة عن التفاف السلسلة الببتيدية، الحاوية على حلزونات α او شرائط β أو صفائح β، على نفسها بشكل وثيق بحيث تعطينا بنية مضغوطة packed ثلاثية الابعاد للبروتين.

أحد الميزات الهامة للبنية الثالثية ان الحموض الامينية البعيدة عن بعضها تصبح قريبة من بعضها نتيجة الالتفاف المضغوط للسلسلة ممايسمح بارتباط السلاسل الجانبية للحموض الامينية ببعضها البعض بعدة انواع من الروابط على رأسها الروابط اللاتساهمية من النوع الكاره للماء، مما سيؤدي بدوره إلى المحافظة على ثبات بنية البروتين ثلاثية الابعاد (رأينا سابقا ان الروابط التي تحافظ على ثبات البنى الثانوية هي بالمقام الاول روابط هيدروجينية أما هنا في البنية الثالثية فهي على الغالب روابط كارهه للماء). بالاضافة الى الروابط اللاتساهمية، قد تتشكل روابط تساهمية من نوع ثنائية الكبريت Disulfide بين جزيئات سيستئين بعد التفاف السلسلة الببتيدية في البنة الثالثية، ممايعطي ثباتية أكبر للشكل الفراغي للبرويتن.

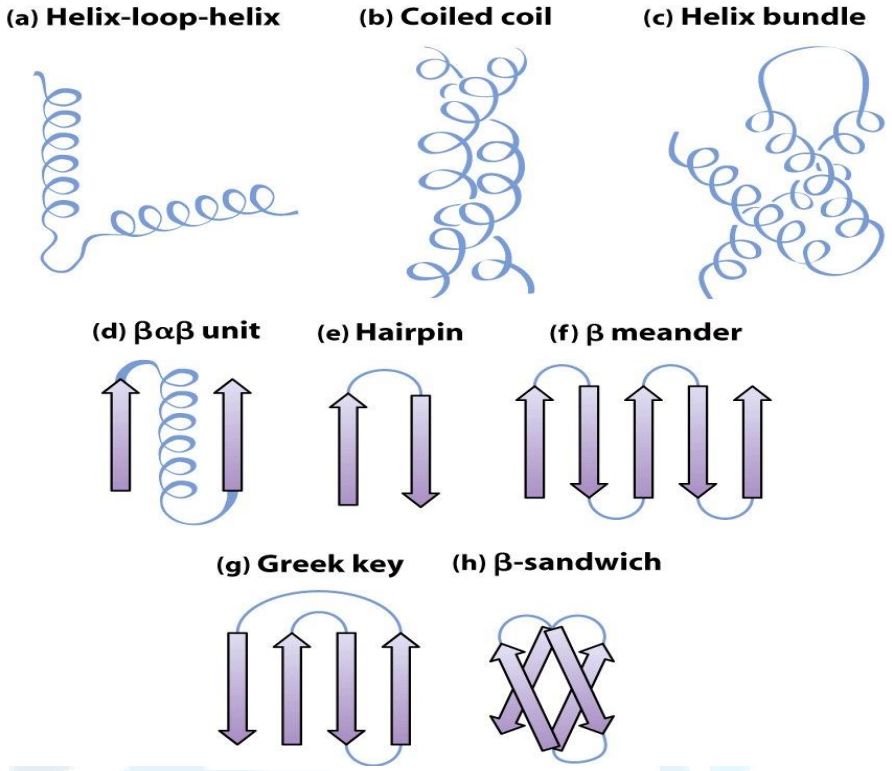


إن أولى مستويات البنية الثالثية هي البنية فوق الثانوية Supersecondary Structure، يليها الميدان Domain الذي يؤدي اجتماع عدد منه إلى الحصول على البنية الثالثية الكاملة للبروتين.

البنى فوق الثانوية Supersecondary Structures

هي عبارة عن ارتباط حلزونات α و شرائط β مع بعضها بواسطة عرى أو انعطافات معطيةً بنى محددة شكلياً تدعى بالبنى فوق الثانوية أو الحفازات motifs. ترتبط بعض الحفازات بوظيفة معينة، على الرغم من انه أحيانا قد يكون لنفس الحفاز وظيفة أخرى في بروتين أخر.

يوضح الشكل التالي مجموعة من أهم الحفازات التي يمكن مشاهدتها ضمن البنية ثلاثية الأبعاد للبروتينات:



أحد أبسط هذه الاشكال هو الحفاز حلزون-عروة-حلزون helix–loop–helix، وكمثال عن ارتباط بعض الحفازات بوظائف معينة في الخلية فإن هذا الحفاز يتواجد في العديد من البروتينات الرابطة للكالسيوم حيث يتواجد في منطقة العروة حموض أمينية من نوع أسبرتات وغلوتامات سالبة الشحنة قادرة على ربط الكالسيوم موجب الشحنة.

الشكل الثاني يدعى اللفائف الملتفة coiled-coil عبارة عن اثنين من الحلزونات α الامفيباتية ملتفة على بعضها من جهة الوجه الكاره للماء.

عندما ترتبط مجموعة من االحلزونات α ببعضها بواسطة عرى فإنها تشكل نوع من الحفازات التي تدعى حزمة الحلزون helix bundle وفيها تكون الحلزونات باتجاهات مختلفة، على عكس اللفائف الملتفة التي يكون فيها الحلزونين بشكل متوازي.

الوحدة بيتا ألفا بيتا βαβ هي عبارة عن اثنين من شرائط β يفصل بينهما حلزون α ويرتبط الثلاثة ببعضهم بواسطة عرى، كما يكون الثلاثة بشكل متوازي.

الحفاز التالي يدعى hairpin حبكة الشعر وهو نموذج بسيط مكون من اثنين من شرائط بيتا من النوع غير المتوازي Antiparallel، المرتبطة مع بعضها بواسطة انعطاف بيتا β turn.

الشكل المتعرج بيتا β meander هو عبارة عن صفيحة β غير متوازية متسلسلة، يكون فيه ترتيب الحموض الامينية بنفس تسلسل ترتيبها في السلسلة الببتيدية.

المفتاح اليوناني Greek key هو نموذج خاص من الصفائح بيتا غير المتوازية، مكون من 4 شرائط β بحيث أن الشرائط 1 β و 2 تشكل وسط الصفيحة أما الشرائط 3 و 4 تشكل الحواف الخارجية للصفيحة.

الشكل الاخير يدعى بيتا ساندويش β sandwich وهو كما رأينا عبارة عن شرائط β أو صفائحβ ملتصقة احدها فوق الاخرى.

الميدان Domain

تحتوي العديد من البروتينات على ميدان واحد أو أكثر، و هي عبارة عن وحدات محددة من البروتين منفصلة ملتفة على بعضها بشكل مستقل. يتكون الميدان من دمج عدة حفازات حيث اننا نلاحظ أنه يتكون من عدة بنى ثانوية. قد يكون الميدان صغير يتألف فقط من عدة احماض امينية حوالي 25-30، وقد يكون كبير يصل إلى 300 حمض أميني.

تكون الميادين عادة متصلة ببعضها بواسطة عرى ولكن يوجد ايضا نوع من الترابط الضعيف بين الميادين من خلال تشكل روابط لاتساهمية بين السلاسل الجانبية للاحماض الامينية الموجودة على سطح هذه الميادين.

يبين الشكل المجاور الشكل ثلاثي الابعاد لانزيم البيروفات كيناز Pyruvate kinase، حيث يتكون من 3 ميادين منفصلة كمانشاهد. يتكون الميدان العلوي من الاحماض الامينية من رقم 116-219 والميدان الوسطي من الأحماض الأمينية من رقم 1-115 بالاضافة للأحماض الامينية ذات الأرقام 220-388 والميدان السفلي من الأحماض الأمينية 389-530. وبالتالي بالرغم من انه بالاغلب يتكون الميدان من سلسلة متتالية من الاحماض الامينية إلى أنه قد يكون مكونا من اكثر من منطقة من السلسلة الببتيدية كما هو الحال في الميدان الوسطي لهذا الأنزيم.

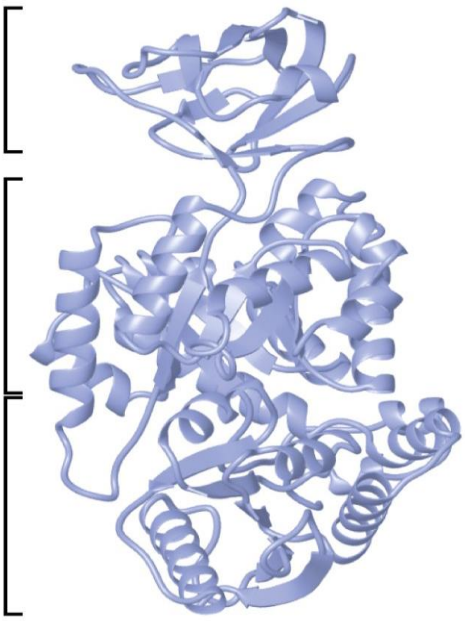


Figure 4-20 Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Distinct domains of Pyruvate kinase from Cat

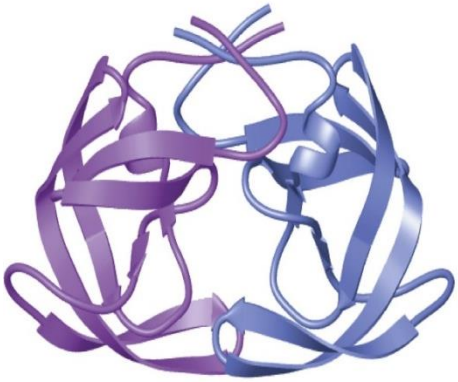
إن العلاقة بين بنية الميدان ووظيفته معقدة. ولكن عموما فإن كل دومين يملك وظيفة معينة مثل ربط الجزيئات الصغيرة او القيام بتفاعل انزيمي معين. فمثلا في الانزيمات متعددة الوظائف فإن كل فعالية انزيمية تكون مرتبطة بواحد من الميادين العديدة الموجودة في سلسلة ببتيدية واحدة.

البنية الرابعية للبروتين:

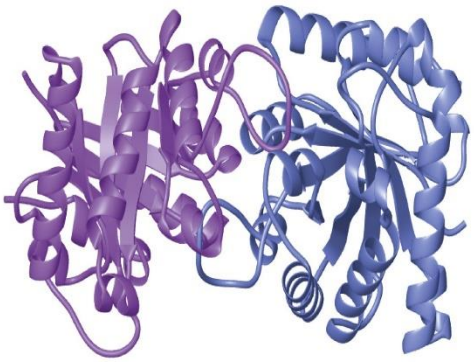
تظهر العديد من البروتينات مستوى أعلى من التنظيم يدعى البنية الرابعية. تشير البنية الرابعية إلى تنظيم وترتيب تحت الوحدات subunits لبروتين مكون من مجموعة من تحت الوحدات. كل تحت وحدة هي عبارة عن سلسلة ببتيدية منفصلة. يشار إلى البروتين المكون من عدة تحت وحدات بالأوليغومير oligomer حيث أن كل سلسلة ببتيدية هي عبارة عن monomer. يمكن للوحدات ان تكون متماثلة او مختلفة. عندما تكون متماثلة فإن البروتين يكون مكون من وحدتين (مثنوي dimer) أو أربع وحدات tetramers على الغالب. أما إذا كانت مختلفة فإن كل وحدة يكون لها وظيفة معينة. يتم تمثيل oligomer بأحرف يونانية لكل نوع من الوحدات α، β، γ... مع أرقام للاشارة إلى عدد كل نوع من الوحدات. مثلا، يتكون بروتين الهيموغلوبين من 4 تحت وحدات، وحدتين α ووحدتين β، وبالتالي يرمز للبروتين على النحو التالي $\alpha_2\beta_2$.

ترتبط تحت الوحدات فيما بينها بروابط لاتساهمية ضعيفة من النوع الكاره للماء. ونظرا لكون هذه الروابط ضعيفة يمكن فك ارتباط هذه الوحدات بالمختبر على الرغم من كونها مرتبطة ببعضها بشكل وثيق ضمن العضوية.

في الشكل نلاحظ اثنين من البروتينات التي تملك بنية رابعية: بروتين التريوز فوسفات ايزوميراز triose phosphate isomerase وأنزيم البروتياز protease في فيروس الايدز. كل منهما مكون من ارتباط تحت وحدتين متماثلتين، أي أن هذين البروتينين ينتميات إلى البروتينات المثنوية Dimeric proteins.



HIV-1 aspartic protease



Chicken triose phosphate isomerase

ماهي فوائد البنية الرابعية للبروتين؟ يعود السبب بأن عدد كبير من البروتينات تملك بنية رابعية (توجد بشكل اوليغومير) إلى :

1-تعتبر الاوليغومير أكثر ثباتا من وحداتها المنفصلة وبالتالي فإن هذه البنية الرابعية تطيل حياة البروتينات في الخلية.

2-يتشكل الموقع الفعال لعدد من الانزيمات من مجموع حموض امينية مشتركة من اكثر من تحت وحدة.

3-عندما تؤدي بعض البروتينات وظيفتها، يحدث تغير في بنيتها ثلاثية الابعاد، أي تتغير كل من البنية الثالثية والرابعية للبروتين حتى يحدث التأثير المرغوب لهذا البروتين.

4-يمكن ان تتشارك عدد من البروتينات بنفس تحت الوحدات، وبالتالي لابد من وجود تحت وحدات اخرى مميزة لكل نوع من هذه البروتينات حتى تستطيع ان تؤدي وظائف مختلفة في الجسم.

تمسخ البروتين وإعادة بناء البنية ثلاثية الأبعاد Protein Denaturation and Renaturation

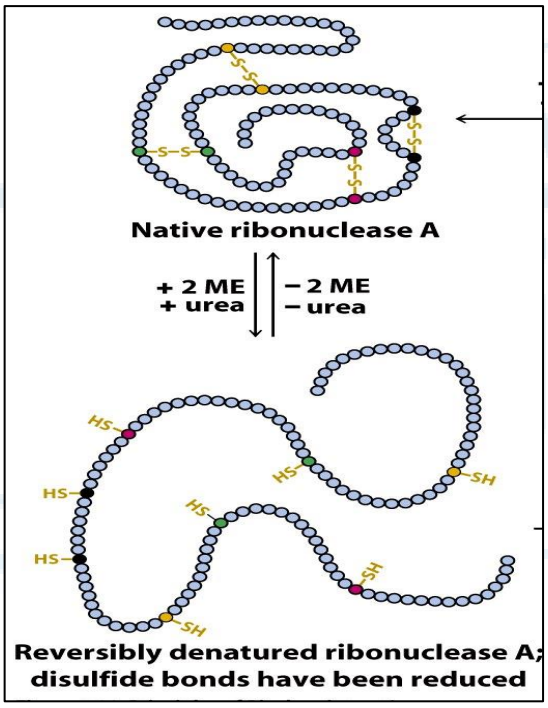
تسبب التغيرات البيئية او المعالجة بمواد كيميائية تخرب البنية ثلاثية الابعاد للبروتينات وبالتالي فقدان فعاليتها البيولوجية وهذا ما يدعى بعملية **التمسخ البروتيني Protein denaturation.**

إن كمية الطاقة اللازمة لهذه العملية تعتبر كمية صغيرة تعادل الكمية اللازمة لتخريب 3 أو 4 روابط هيدروجينية. بعض البروتينات تتخرب بنيتها بالكامل بحيث تصبح بشكل سلسلة ببتيدية ملفوفة بشكل عشوائي وبعضها الاخر يحافظ على بعض ملامح بنيته ثلاثية الابعاد. في بعض الاحيان يمكن تحت ظروف معينية ان يعاود البروتين الصغير نسبيا اكتساب بنيته الاساسية إذا زالت العوامل المسببة للتمسخ وتدعى هذه العملية Renaturation أي إعادة بناء الشكل ثلاثي الأبعاد للبروتين.

من أهم العوامل الممسخة الحرارة. تحدث عادة عملية التمسخ في مجال صغير من درجات الحرارة، وهذا يدل على أن عملية تفكك البروتين هي عملية تعاونية حيث ان تخرب عدد قليل من الروابط الضعيفة ضمن بنية البروتين يؤدي إلى تخرب كامل بنية البروتين الاصلية. ضمن الظروف الفيزولوجية للخلية تقاوم البروتينات درجات الحرارة حتى 50-60 درجة مئوية.

يمكن ان تتمسخ البروتينات أيضاً بواسطة بعض المواد الكيميائية: كالعوامل الممسخة chaotropic agents (مثل اليوريا، كلوريد الغوانيدينيوم، الإيتانول، ن-بوتانول...) والمنظفات Detergents.

يبين الشكل المجاور عملية تمسخ أنزيم الريبونكلياز أ البقري Bovine ribonuclease A تحت تأثير اليوريا كعامل ممسخ، ومن ثم إعادة بناء الشكل ثلاثي الابعاد له بعد زوال العامل الممسخ.

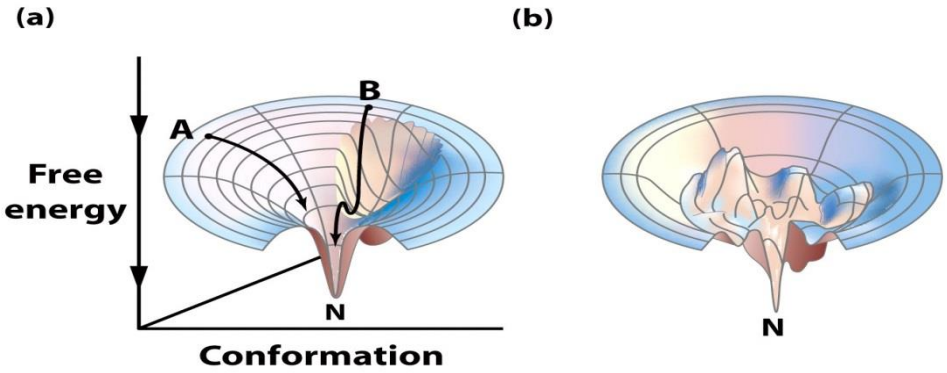


طي البروتين والثباتية Protein Folding and Stability

يتم اصطناع البروتينات في الخلية من خلال معقد الترجمة الذي يتألف من ريبوزومات ورنا مرسال وعوامل اخرى في منطقة الشبكة الإندوبلاسمية Endoplasmic reticulum في الخلية. عندما يخرج البروتين المصطنع من الريبوزوم **فإنه يلتف مباشرة وبشكل تلقائي** ليأخذ بنيته ثلاثية الابعاد.

يعتقد ان الارتباطات الاولى في البروتين أثناء التفافه لاخذ بنيته النهائية هي التي تحدد شكل الارتباطات اللاحقة، وهذا مايدعى بالفعل التعاوني cooperative effect في طي البروتين.

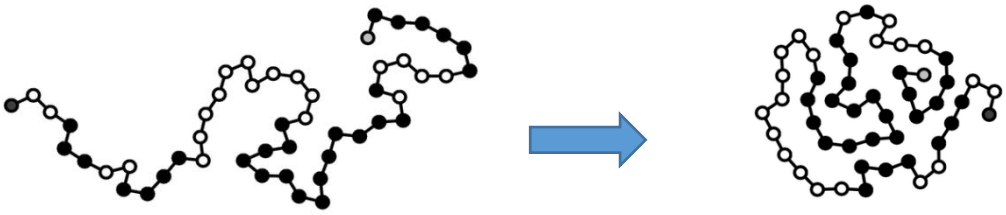
عندما يبدأ البروتين بالالتفاف لأخذ بنيته ثلاثية الأبعاء الثابتة فإن طاقته الحرة ستبدأ بالانخفاض. يمكن للطاقة الحرة أن تتغير صعودا ونزولا أثناء أخذ البروتين لبنيته إلا أنها في النهاية ستصل إلى أدنى مستوياتها عندما يكون البروتين قد اخذ بنيته النهائية المتراصة. تعتبر البنية ثلاثية الابعاد للبروتين بنية ثابتة ومقاومة للتقويض أكثر بكثير من السلسلة الببتيدية الخطية.



حتى الان لم يتم توصيف طرق طي البروتينات بشكل دقيق، إلا أن أغلب الابحاث اهتمت بتوصيف المركبات الوسطية intermediate التي تتشكل اثناء عملية الطي.

تم وضع عدة فرضيات لامكانية التفاف السلسلة الببتيدية، حيث ان السلسلة الببتيدية تبدأ بالانطواء على نفسها اولا نتيجة للتاثير الكاره للماء hydrophobic effect، حيث تميل الحموض الامينية الكارهة للماء بالتجمع مع بعضها البعض في الجزء الداخلي من البروتين بحيث تكون في معزل عن الماء، في حين تميل الحموض الامينية المحبة للماء إلى التوضع على السطح الخارجي للبروتين. تدعى هذه العملية بالتنكس الكاره للماء Hydrophobic collapse للسلسلة الببتيدية، كما هو موضح في الشكل.

MANARA UNIVERSITY



تعتبر عملية طي البروتين عملية عفوية وسريعة، وتتحدد من خلال متتالية الأحماض الأمينية الموجودة في البنية الاولية للبروتين، أي أن البنية الاولية للبروتين تحدد بنيته الثالثية. تتم عملية انطواء كل ميدان بشكل مستقل عن الميدان الآخر.

تترافق عملية التنكس الكاره للماء مع تشكل بنى ثانوية (حلزونات α او شرائط β او عرى)، ويدعى الشكل الوسطي المتشكل molten globule. في مرحلة تالية تاخذ هذه الأشكال الوسطية شكل قريب من البنية الثالثية، حيث تبدأ الحفازات بالظهور لنصل إلى المرحلة الاخيرة من عملية الطي وذلك عندما يأخذ البروتين شكله النهائي وبنيته ثلاثية الابعاد.

يوضح الشكل التالي بعض الفرضيات لسبل طي بعض البروتينات.