
الباب العاشر :

الأحماض الأمينية والبروتينات

الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة

خواص الأزواج القطبي للأحماض الأمينية

تحليل مخاليط الأحماض الأمينية

تفاعل النينهيدرين

تحضير الأحماض الأمينية

تفاعلات الأحماض الأمينية

البيبتيدات

التركيب الأولي للبروتين

الخواص الكيميائية للبروتينات

الأسئلة

الباب العاشر :

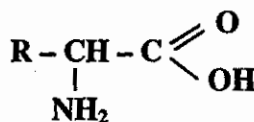
الأحماض الأمينية والبروتينات

البروتينات هي بوليمرات تتكون من وحدات أحماض أمينية متصلة عن طريق روابط أميد. وعندما يتحلل بروتين بالتسخين مع محلول حمض في ماء فإنها تتحول إلى مخلوط من أحماض أمينية ألفا.

ولو أخذنا في الاعتبار النوعيات الكثيرة من البروتينات الموجودة في الطبيعة فإن الملاحظة المؤكدة هي أن الأحماض الأمينية ألفا الشائعة التي تنتج من تحلل البروتينات هي حوالي عشرين حمضًا مختلفًا فقط. وهذه الأحماض الأمينية هي التي تكون الوحدات الأساسية في بناء البروتينات.

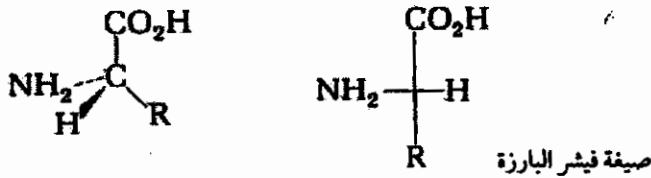
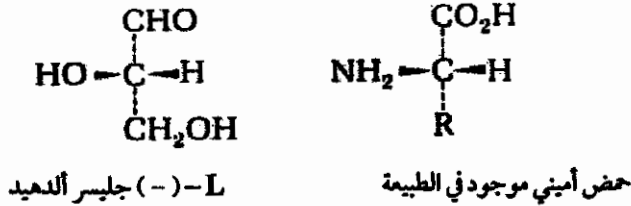
الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة :

أحماض أمينية ألفا هي الشائعة في نواتج التحلل المائي للبروتينات أي أن مجموعة أمينو تكون على ذرة كربون مجاورة أو في موضع ألفا بالنسبة لمجموعة الكربوكسيل .



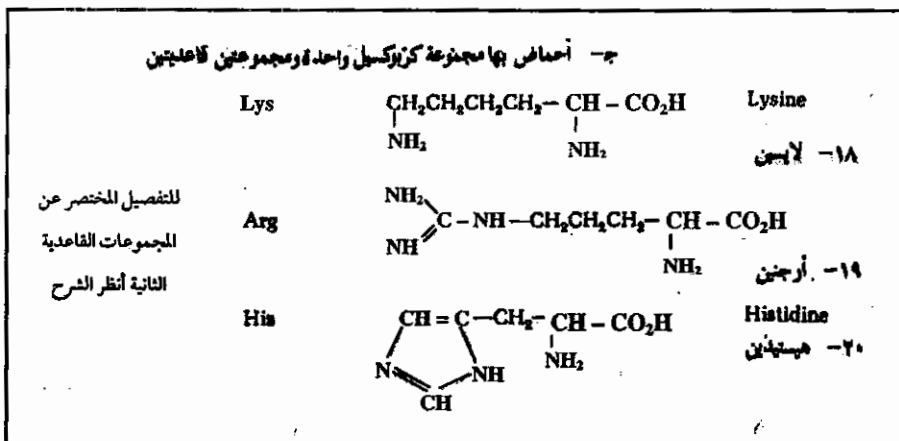
وأبسط هذه الأحماض (R = H) هو حمض أمينو أسيتيك واسمه الشائع جلايسين. وعندما تكون R ≠ H فإن ذرة كربون ألفا تكون غير متماثلة. وياستثناء جلايسين فإن كل الأحماض الأمينية المشتقة من البروتينات ذات نشاط ضوئي .

ولها ترتيب فراغي L (بالنسبة لجليسير الدهيد): أي أنه من صيغ فيشر البارزة تظهر مجموعة أمينو على اليسار كما يلي :



والأحماض الأمينية العشرون الأكثر شيوعاً مبيّنة في الجدول التالي. وكلها لها أسماء شائعة وهناك اختصارات من ثلاثة أو أربعة حروف للأسماء تستعمل لتمثيل الأحماض الأمينية في البروتين أو تركيبات البيبتيد. وتسهيلاً لتذكر الأسماء والصيغ فقط قسموا إلى مجموعات جانبية في الجدول .

R	الاختصار	الصيغة	الاسم
أ- احتمالي بها مجموعة أمين واحدة ومجموعة كربوكسيل واحدة			
	Gly	$\text{H}-\text{CH}-\text{CO}_2\text{H}$ NH_2	Glycine جلايسين -1
	Ala	$\text{CH}_3-\text{CH}-\text{CO}_2\text{H}$ NH_2	Alanine ألانين -2
R=H	Val	$\text{CH}_3\text{CH}-\text{CH}-\text{CO}_2\text{H}$ CH_3 NH_2	Valine فالين -3
	Leu	$\text{CH}_3\text{CHCH}_2-\text{CH}-\text{CO}_2\text{H}$ CH_3 NH_2	Leucine لوسين -4
	Ileu	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}-\text{CO}_2\text{H}$ CH_3 NH_2	Isoleucine أيزولوسين -5



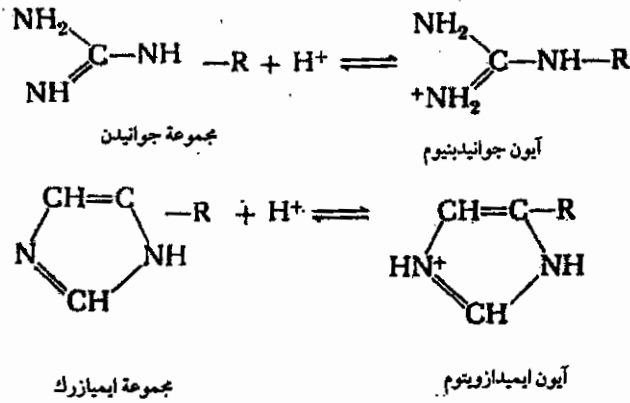
ومعظم الأحماض الأمينية من 1 إلى 15 بالجدول تحتوي على مجموعة أمينو واحدة ومجموعة كربوكسيل واحدة. ويوجد في هذا النوع مجموعات R بسيطة من 1 إلى 5 ومجموعات فعالة أخرى مثل الكحوليات (6، 7، 12) ومركبات كبريت من 8 إلى 10 وفينول (14) وحلقات أروماتية من 13 إلى 15.

ومن بين الحمضين الأمينيين المحتويين على مجموعتي كربوكسيل (16 و 17) فإن حمض جلوماتيك في صورة ملح الصوديوم (جلوتامات أحادي صوديوم) هو عامل مساعد لمسيبات الطعم ويباع تحت الاسم التجاري أسنت.

والأحماض الثلاثة الأخيرة في الجدول بها مجموعتان قاعديتان ولو أن المجموعة القاعدية الفعالة الثانية في اثنين من هذه المركبات ليست مجموعة أمينو بسيطة. ويحتوي أرجينين على مجموعة جوانيدين ويحتوي هستيدين على حلقة إيميدازول.

وكل من هذه المجموعات الفعالة قاعدي ويستقبل بروتونا بسهولة كما موضح

بالمعادلتين الآتيتين :



وتحتوي البروتينات على أعداد مختلفة من الأحماض الأمينية المتنوعة المدونة في الجدول السابق ولو أنه ليس كل البروتينات تحتوي على هذه الأحماض الأمينية. وترتيب الأحماض الأمينية في بروتين معين هو الذي يحدد صفات هذا البروتين.

وعلى ذلك فالبروتين غير القابل للذوبان مثل هذا الموجود في الشعر والصوف والأوتار، يحتوي في تركيبه على نسبة عالية من أحماض أمينية ذات سلاسل جانبية غير قطبية مثل أرقام 1 إلى 5 و 11 و 13 بالجدول .

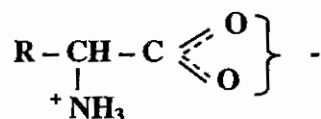
بينما البروتينات الأكثر قابلية للذوبان (مثل أنزيمات، ألومين، هيموجلوبين) تحتوي على نسبة كبيرة من أحماض أمينية ذات سلاسل جانبية قطبية، حمضية أو قاعدية مثل رقم 6 و 7 و 16 إلى 20 بالجدول.

بالإضافة إلى العشرين من الأحماض الأمينية المشتقة من البروتينات المينة بالجدول هناك أحماض أمينية كثيرة تم فصلها من مصادر طبيعية. وبعض من هذه الأحماض لها ترتيب فراغي D .

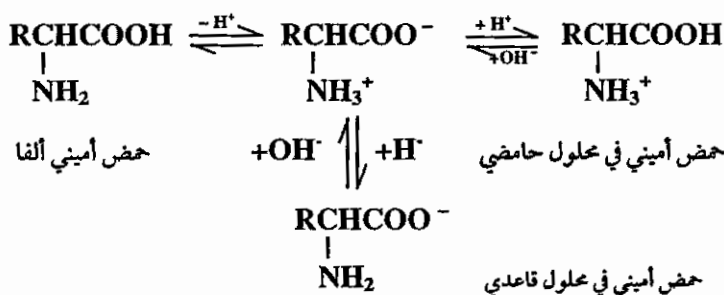
خواص الأزواج القطبي للأحماض الأمينية :

كل الأحماض الامينية في الجدول السابق مواد صلبة متبلورة عديمة اللون. ذات درجة انصهار عالية أعلى من 200 ، وعندها غالبًا ما تتفكك أو تنحل. وأغلب الأحماض الأمينية غير قابلة للذوبان نسبيًا في المذيبات العضوية سواء كحول أو أثير أو بنزين ، ولكنها متوسطة الذوبان على الأقل في الماء .

هذه صفات مميزة للمركبات الأيونية أكثر منها للمركبات التساهمية، والتفسير واضح حيث أن نتروجين الأمينو أكثر قاعدية من أنيون كربوكسيلات. بالاختبار بين الاثنين فإن البروتون يفضل الإضافة إلى الأولى بحيث يكون من الأحسن تمثيل حمض أميني بتركيب يكون فيه البروتون متصلاً بالنتروجين بدلاً من الأكسجين .



وهذا التركيب ثنائي القطب يوضح الخواص الأيونية أو شبه الملح للأحماض الأمينية ، والأحماض الأمينية مترددة يمكنها أما استقبال بروتون من حمض قوي أو إعطاء بروتون لقاعدة قوية. ويعبر في المعادلة التالية عن التوازنات لحمض أميني ليس به مجموعات حامضية أو قاعدية أخرى .



ومحصلة الشحنة في جزئ الحمض الأميني هي الدالة على حمضية المحلول. في محلول حامضي يحمل الجزئ شحنة موجبة وهي على ذرات النتروجين ، بينما يحمل الجزئ شحنة سالبة في محلول قاعدي وهي على ذرات الأكسجين .

وإذا وضع محلول حامضي لحمض أميني في مجال كهربائي فإن الأيون العضوي يتحرك نحو الكاثود أي القطب السالب ، وعند التحليل الكهربائي لمحلول قلوي سوف يتحرك الأيون العضوي نحو الأنود أي القطب الموجب .

ونجد أنه وسطاً بين هاتين الحالتين، من الممكن الحصول على محلول ذي حمضية محددة (pH) بحيث يكون الأيون العضوي ثنائي القطب ومتعادل كهربياً. وبذلك لا يتحرك نحو أيمن القطبين. ودرجة (pH) هذه تعرف بنقطة التساوي الكهربى وهي مميزة لكل حمض أميني. ومن الممكن ألا تكون هذه النقطة عند نقطة التعادل ($pH = 7$) لأن الجزء القاعدي من الجزيئ ربما لا يكون قاعدياً بنفس قدر حامضية الجزء الحمضي والعكس صحيح.

وتتراوح نقطة التساوي الكهربى للأحماض الأمينية ذات مجموعة أمينو واحدة ومجموعة كربوكسيل واحدة بين درجات pH من 5.5 إلى 6.5 وبالمقابل فإن المركبات ذات المجموعتين الحمضيتين لها نقاط تساوي كهربى قريبة من درجة $pH = 3$.

بينما الأحماض الأمينية القاعدية لها نقاط تساوي كهربى عند pH بين 7.5 إلى 10.5 وهي أرقام 18-20 بالجدول، والأرجنين هو أكثر الأحماض الثلاثة قاعدية.

تحليل مخاليط الأحماض الأمينية :

ولتحديد أنواع وكميات الأحماض الأمينية الموجودة في بروتين فمن الضروري أن يكون لدينا طرق لتحليل مخاليط الأحماض الأمينية التي يتم الحصول عليها عند التحلل المائي للبروتين . وهذا يتطلب:

(أ) طريقة عمل لفصل الأحماض كل من الآخر (ب) طريقة للتعرف على كل حمض أميني (ج) طريقة لتعيين كمية كل حمض أميني موجودة.

وقد استحدثت في السنوات الحديثة أجهزة للقيام بهذه الأعمال أوتوماتيكياً. وهي تعمل على الوجه التالي. يوضع أولاً مخلوط الأحماض الأمينية الناتج من تحلل مليجرامات قليلة من بروتين على قمة عمود معبأ بمادة لها قدرة اختيارية على امتصاص الأحماض الأمينية .

وهذه العبوة تتكون من راتنج محتويًا على مجموعات حامضية قوية مثل حمض سلفونيك . وعندما تكتسب الأحماض الأمينية بروتونات بفعل المجموعات الحامضية على الراتنج فإنها تصبح موجبة الشحنة ويصبح الراتنج سالب الشحنة.

ثم يضغط محلول منظم معلوم درجة pH ليمر خلال العمود. وتمر الأحماض الأمينية خلال العمود بسرعات مختلفة تعتمد على تركيبها وقاعدتها وبذلك يتم فصلها. ويقابل المحلول المنبثق من العمود بتيار من كاشف نينهيدرين.

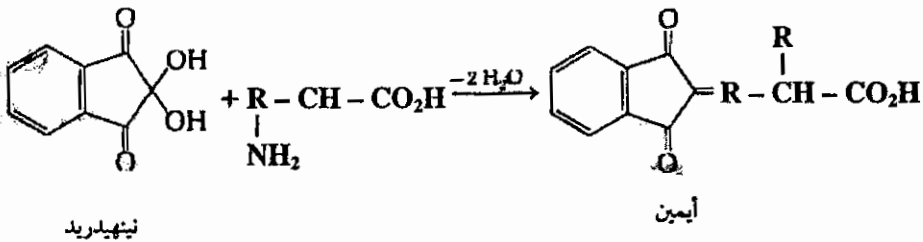
وهو كاشف يتفاعل مع الأحماض الأمينية منتجًا صبغة زرقاء. وعلى ذلك فالمحلول المنبثق من العمود يكون إما عديم اللون أو أزرق متوقعًا على كون الحمض الأميني يسيل خارجًا من العمود أم لا يسيل .

ويقاس امتصاص الصبغة للضوء عند طول موجة مقدارها 570 نانومتر ويسجل أوتوماتيكياً كدالة لحجم المحلول المنبثق من العمود. ووقت ظهور الحزمة هو صفة مميزة للحمض الأميني المعين تستعمل للتعرف عليه.

وكثافة حزمة الامتصاص يعتبر مقياسًا لكمية كل حمض أميني موجود. يمكن استعمال طرق كروماتوجرافية أخرى أي طبقات رقيقة، أو غاز سائل، لتحليل مخاليط الأحماض الأمينية.

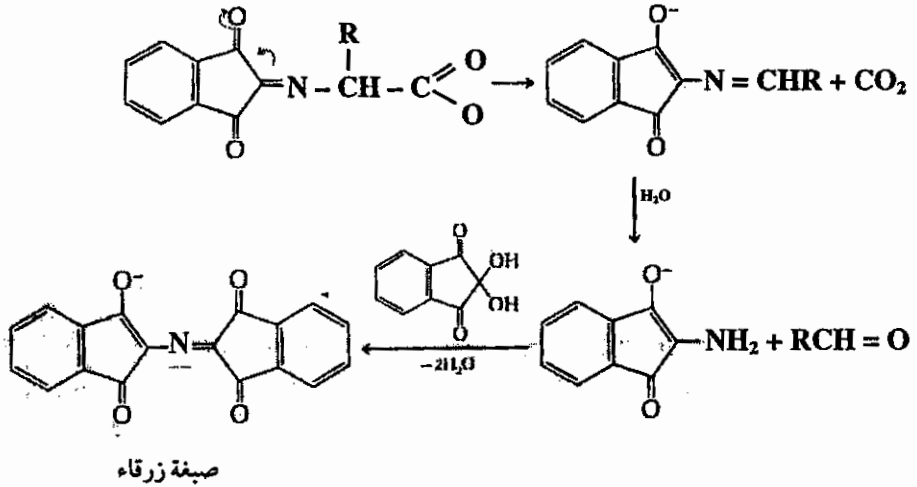
تفاعل النينهيدرين :

النينهيدرين هو كاشف قيم للكشف والتقدير الكمي لتركيز الأحماض الأمينية. وهو هيدرات ثلاثي كيتون وتتضمن الخطوة الأولى في تفاعله مع الأحماض الأمينية، تكوين مركب إيمين كما يلي :



وانتزاع مكونات ثاني أكسيد الكربون والتحلل المائي يدي إلى مشتق أمينو الذي يتكثف مع جزئ ثانٍ من نينهيدرين لينتج صبغة زرقاء ولون الصبغة عميق للغاية بحيث أن تركيز 10^{-6} إلى 10^{-7} جزيئي من حمض أميني يمكن تقديره كميًا بسهولة .

وحيث أن صفة الصبغة المشتقة من الحمض الأميني هي ذرة النتروجين، فإن كل الأحماض الأمينية ذات مجموعة أمينو أولية تعطي نفس الصبغة. البرولين والهيدروكسي برولين يختلفان لحد ما في السلوك ويعطيان صبغة صفراء.

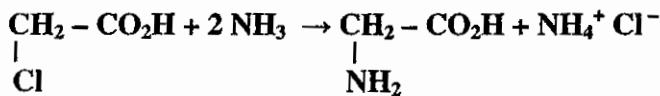


ويمكن تعيين الامتصاص بواسطة جهاز تحليل أحماض أمينية يفحص المحلول الخارج عند طول موجة قدرها 440 نانوميتر بدلاً من طول الموجة العادية 570 نانوميتر العادية .

تحضير الأحماض الأمينية :

كل الأحماض الامينية الشائعة الموجودة في البروتينات تستعمل كإضافات غذائية في دراسات التغذية والأمراض وكذلك في التجارب البيوكيميائية. وقد استحدثت طرق تخليقية كثيرة لإنتاج الأحماض الأمينية. وسوف نذكر منها هنا اثنين، كل منهما هو إمتداد لتفاعلات تمت دراستها من قبل .

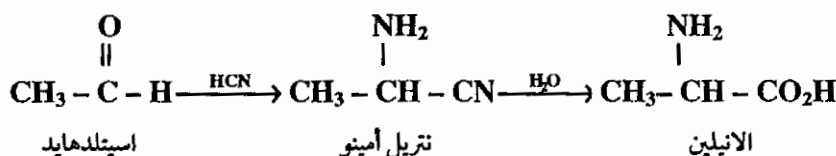
حيث أن أحماض ألفا الهالوجينية تتفاعل مع زيادة من النشادر لتعطي أحماض ألفا-أمينو. والتفاعل الموضح في المعادلة التالية في حالة جلايسين هو مشابه لتحضير الأمينات من هاليدات الكيل .



حمض كلورواستيك

جلايسين

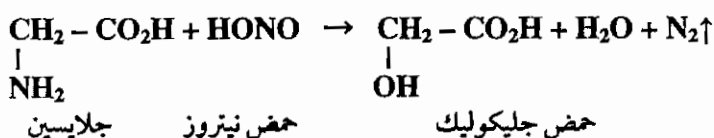
وهناك طريقة تخليق أخرى موازية لتخليق أحماض ألفا-هيدروكسي من سيانو هيدريانات وعندما يتفاعل سيانيد هيدروجين مع ألدهيد في وجود نشادر يكون الناتج نتريل أمينو. والتحلل المائي لمجموعة سيانو يعطي الحمض الأميني. ويعرف التفاعل باسم "تخليق شتريكر" وهو موضح بالنسبة للألانين كما يلي :



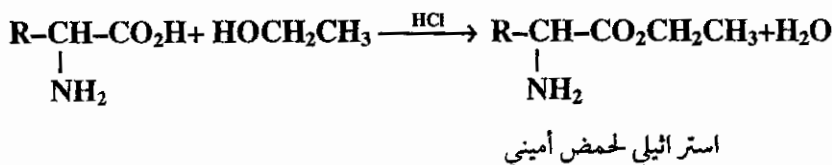
وهذان التخليقان يعطيان أحماض أمينية راسمية حيث يمكن فصلها في حالة الاحتياج إلى أحماض ذات نشاط ضوئي.

تفاعلات الأحماض الأمينية :

تتفاعل مجموعة أمينو الأولية مع حمض نيتروز ويتحرر غاز نتروجين وإذا قيس حجم غاز النتروجين فإنه يمكن استعمال التفاعل لتعيين عدد مجموعات أمينو الحرة الموجودة في بيتيد أو بروتين (طريقة فان زلايك) كما يلي :

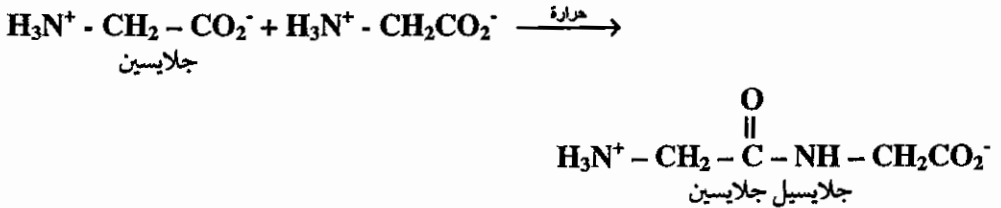


وتتفاعل الأحماض الأمينية مع الكحولات مكونة استرات. واسترات إيثيل متطايرة وقد استغل أميل فيشر هذه الحقيقة منذ سنين طويلة ليفصل لأول مرة أحماض أمينية نقية من نواتج تحلل بروتين باستعمال التقطير التجزيئي للاسترات.

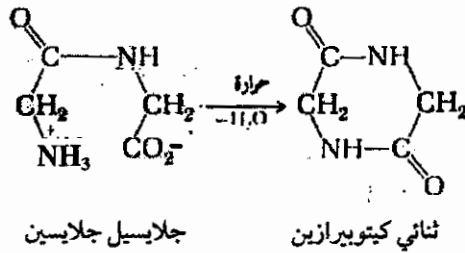


ويمكن تحويل الأحماض الأمينية إلى أميدات عند إحدى المجموعتين الفعاليتين وهذه القدرة هي الهامة في تكوين البيبتيدات والبروتينات. ولتذكر أنه عند تسخين أملاح أمونيوم. فإنها تفقد ماء وتكون أميدات.

ويمكن أن يحدث تفاعل شبيه مع الأحماض الأمينية التي هي ملح أمين داخلي. فمثلاً عند تسخين جلايسين بشدة يمكنه فقد ماء وتكوين البيتيد الثنائي جلايسيل جلايسين كما بالمعادلة التالية:



استمرار التفاعل بطريقة ماثلة يمكن أن يؤدي إلى بوليمر مستقيم وهو بولي جلايسين أي جلايسين متعددة. وبالتبادل يمكن أن ينتج أميد ثنائي حلقي يسمى ثنائي كيتوبرازين.

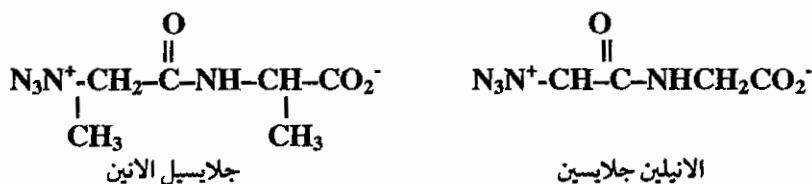


البيبتيدات:

التحلل المائي الجزئي أو غير الكامل للبروتينات لا يؤدي فقط إلى أحماض أمينية ولكن إلى أجزاء تحتوي على وحدتين أو أكثر من الأحماض الأمينية متصلة ببعضها كما كانت في جزئ البروتين الأصلي. ومثل هذه الأجزاء تسمى بيبتيدات.

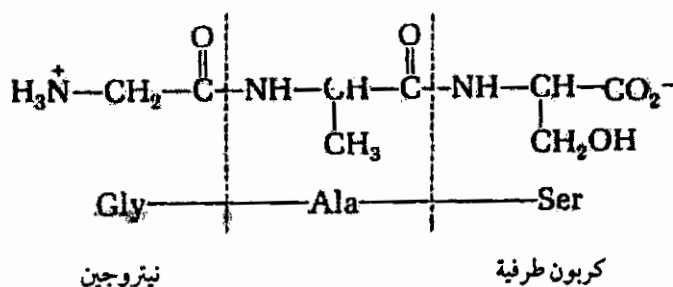
وتسمى ثنائي - أو ثلاثي - أو رباعي - بيبتيدات بناء على عدد وحدات الأحماض الأمينية الموجودة فمثلاً جلايسيل جلايسين هو بيبتيد ثنائي وفيه كل من وحدتي الحمض الأميني متشابهتين.

وإذا اختلفت وحدتا الحمض الأميني في بيتيد ثنائي يكون هناك تركيبين محتملين. وهذا موضح بيتيد ثنائي يتكون من وحدة جلايسين ووحدة ألانين .



ومن المتفق عليه أن تكتب رابطة البيبتيد في الاتجاه الموضح، أي أن -C(=O)-NH- وليس -NH-C(=O)- والكتابة بهذه الطريقة يصبح الحمض الأميني على طرف السلسلة الأيسر محتويًا على مجموعة أمينو حرة (أو NH₃⁺) ويسمى حمض أميني ذو نتروجين طرفيه بينما الحمض الأميني على طرف السلسلة الآخر به مجموعة كربوكسيل حرة (أو CO₂⁻) ويسمى حمض أميني ذو كربون طرفي .

وفي العادة تختصر صيغ البيبتيدات بدمج اختصارات الأسماء للأحماض الأمينية المكونة لها مبتدئًا بالحمض الأميني ذي النتروجين الطرفي. وعلى ذلك فالبيبتيد الثلاثي Gly-Ala-Ser يتضمن رابطتين بيتيديتين وله الصيغة التالية :

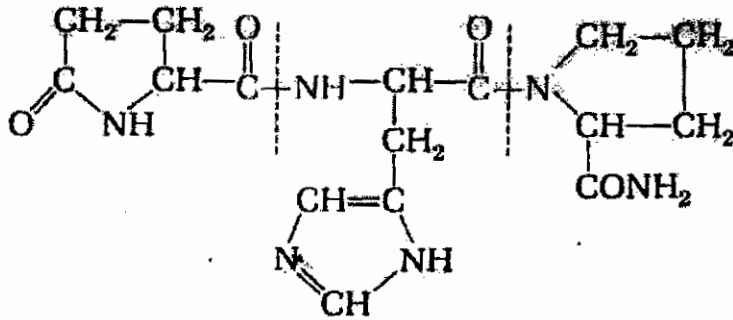


ويمكن للمرء أن يتبين التعقيد في تركيب البيبتيدات والبروتينات حين يتحقق أنه يوجد خمس بيتيدات ثلاثية إضافية يمكن أن تنشأ من هذه الأحماض الامينية الثلاثة. وكلها أيزوميرات وتختلف فقط في التابع الذي تتصل به الأحماض الأمينية ببعضها .

وتتفرز أعداد الأيزوميرات بصورة دراماتيكية بإزدياد طول السلسلة فتصبح 24 في حالة بيتيد رباعي و40320 في حالة بيتيد ثنائي الذي تكون فيه كل الأحماض الأمينية مختلفة .

وتقسم الببتيدات أحياناً إلى بيتيدات أو ليجو أو بيتيدات عديدة أي بولي بيتيدات ، بناء على وجود عدد قليل أو عدد كبير من جزيئات الأحماض الأمينية في الجزيء. وكثير من بيتيدات أو ليجو يظهر أنها مواد بيولوجية هامة بصورة ذاتية .

فمثلاً بيتيد ثلاثي بسيط يسمى TRH (هرمون محرر ثيروثروين) أمكن التعرف على أنه هرمون هام تفرزه غدة هيپوثالامس - وهي قطاع صغير من نسيج الخلايا في قاعدة المخ . ويظهر أنه ينظم سريان هرمون آخر من الغدة النخامية المجاورة. والتحلل المائي الكامل لهذا الببتيد الثلاثي يعطي حمض جلوتاميك وهستيدين وبرولين. وصيغته كالآتي :



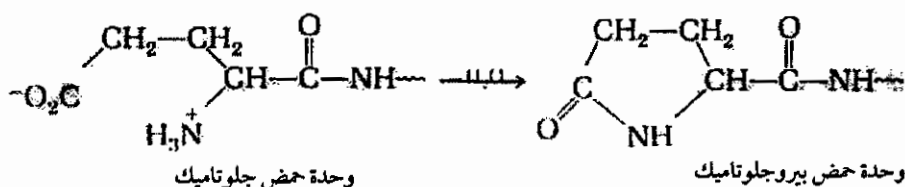
TRH (بيروجلوتاميل هستيديل برولين أميد)



وفي هذه الصيغة نلاحظ اختلافات طفيفة متعددة عن تركيب الببتيد الاعتيادي. فمثلاً مجموعة الكربوكسيل على الكربون الطرفية ليست موجودة كما هي ولكنها في صورة أميد بسيط (-CONH₂).

وهذا الاختلاف شائع في مجموعات الكربوكسيل الطرفية والجانبية في السلسلة ويشار إليها باختصار NH₂ - بالإضافة إلى ذلك فإن مجموعة الأمين الحرة لحمض جلوتاميك ذي

النتروجين الطرفية تعطي أميدًا عن طريق تكوين حلقة مع مجموعة الكربوكسيل الموجودة في السلسلة الجانبية لهذا الحمض كما يلي :

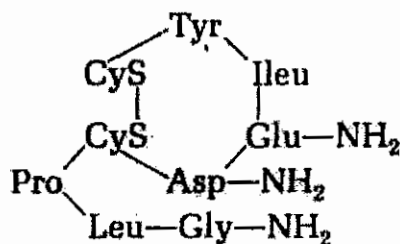


أكستوسين وفازوبرسين وهما بيتيدات أوليغو تفرزها الغدة النخامية كإشارات هرمونات بيتيدية يمكن تخليقها. وأكستوسين الذي ينظم انقباضات الرحم وإفراز اللبن ويساعد في عملية الوضع أثناء المخاض له التركيب الموضح أسفل.

ويلاحظ في هذا التركيب أن الجلايسين ذا الكربون الطرفية وكذلك مجموعات الكربوكسيل في السلسلة الجانبية لحمض أسبارتيك وجلوتاميك توجد على صورة أميدات بسيطة.

والتركيب حلقي نتيجة لرابطة ثنائي كبريتيد وفازوبرسين، الذي يختلف في التركيب عن أكستوسين بوجود فينيل ألانين وأرجنين بدلاً من أيزوليوسين وليوسين، ينظم إخراج الماء عن طريق الكلى كما يؤثر في ضغط الدم.

ومرض البول السكري الذي يعاني فيه المريض من خروج كميات كبيرة من البول يسببه نقص مادة فازوبرسين ويمكن علاجه بإعطاء هذا الهرمون.



تركيب أكستوسين

التركيب الأولي للبروتين :

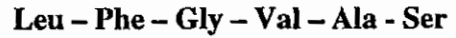
توجد مستويات كثيرة من الآراء التي يوضح على أساسها تركيب البروتين وأولها ترتيب أو تتابع الأحماض الأمينية. فطالما يتم تعيين عدد الأحماض الأمينية الموجودة في بيتيد أو بروتين ونوع كل منها. يصبح من الضروري تحديد النظام الذي كانت ترتبط به أصلاً .

والخطة الشائعة هي إجراء تحليل مائي جزئي لعديد من الببتيدات أو البروتين إلى ببتيدات أوليجو يحتوي كل منها على وحدات أحماض أمينية تتراوح بين اثنين وخمسة وتفصل هذه الببتيدات الصغيرة بطريقة كروما توجرافي العمود.

لتفرض مثلاً بيتيد سدادي أعطى عند تحليله المائي الكامل ستة أحماض أمينية مختلفة هي Gly,Ala,pha,Val, Leu,Ser (جلايسين ألانين ، فينيل الأنين ، فالين ، ليوسين وسيرين) وإذا أدى التحلل المائي الجزئي إلى فصل والتعرف على ثلاث ببتيدات ثلاثية مثل :



فإنه يمكن للمرء أن يستنبط أن الببتيد السدادي الأساسي يجب أن يكون كالآتي :



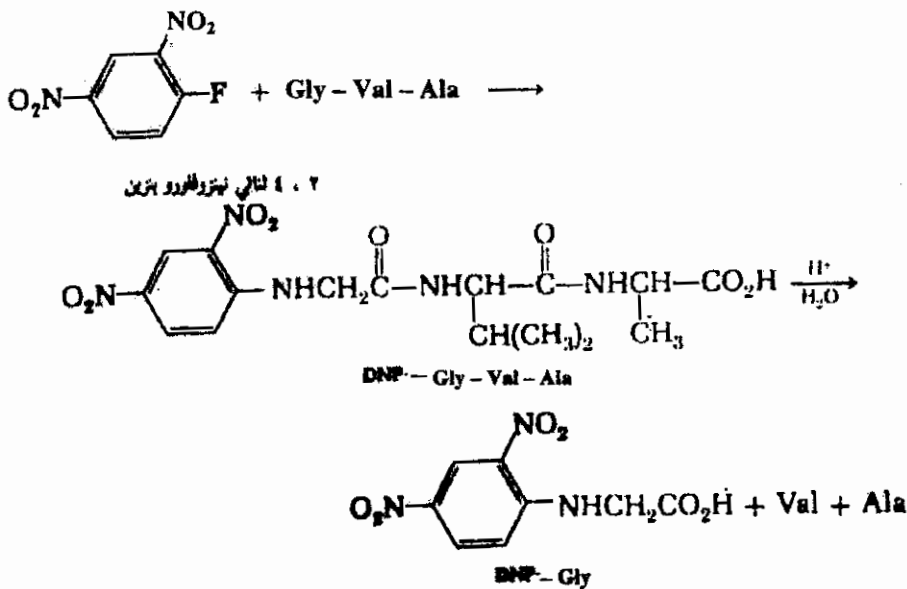
وفصل ببتيد ثلاثي (phe - Gly - Val) أو ببتيد ثنائي Gly - Val أو Leu-phe أو Ala-Ser يمكن أن يعطي دليلاً مؤكداً للترتيب المعطى. ويبين هذا المثال كيف أن المشكلة المعقدة في تحديد تتابع ببتيد ثلاثي يمكن أن تختزل إلى مشكلة أبسط وهي تحديد تتابع ببتيد ثنائي.

وأخيراً على كل حال يجب حل مشكلة التتابع حتى في حالة ببتيد ثلاثي أو ثنائي بسيط. ولتوضيح طريقة واحدة يمكن أن يتم بها هذا الإجراء نفترض ببتيد ثلاثي (Gly-Val-Ala). لاحظ أن الجلايسين (Gly) في الببتيد الثلاثي به مجموعة أمين حرة.

وألانين (Ala) به مجموعة كربوكسيل حرة (وهو الحمض ذو الكربون الطرفي) وفالين (Val) ليس له مجموعات فعالة حرة. وتستغل هذه الخلافات للاستفادة منها في تحديد التتابع.

ويتم التعرف على الحمض الأميني ذي النتروجين الطرفي عادة بالساح للبتيد بالتفاعل مع 2، 4-ثنائي نيتروفلوروبنزين (DNFB اختصار 2,4-dinitro Floro benzene) ويعاني هذا الكاشف استبدال نيوكليوفيلي أروماتي بسهولة مع الأمينات.

ويزاح أيون الفلوريد وينتج 2، 4-ثنائي نيتروفينيل أمين. وحيث أن الحمض الأميني ذا النتروجين الطرفي به مجموعة أمين حرة فإنه يتفاعل مع الكاشف. الأحماض الأمينية في وسط السلسلة أو عند الطرف الكربوكسيلي والتي ليست لها مجموعة أمين حرة لا تتفاعل. وفي المثال المبين يؤدي التفاعل إلى بتيد ثلاثي يكون فيه نتروجين الأمين للجلايسين متصلاً بمجموعة داي نيتروفينيل DNP وعندما يتحلل البتيد الثلاثي المتحور وتفصل نواتج التحلل بطريقة كروماتوجرافي العمود نحصل على مركب DNP-Gly بدلاً من Gly كما يلي :



ولو أننا نحصل على كلا الحمضين الأمينيين الآخرين غير متغيرة. ومشتقات DNP للأحماض الأمينية يكون لونها أصفر وقد أمكن تخليق كل منها على حدة وإثبات سلوكها تجاه كروماتوجرافي الأعمدة بحيث أصبح من السهل التعرف على أي واحدة منها يتم فصله من نواتج تحلل مشتق DNP لبتيد معين.

وفي المثال الموضح فإن فصل DNP-Gly يثبت التركيب على أنه إما Gly-Val-Ala أو Gly-Ala-Val: وتحذف التركيبات الأربعة التي لا يكون فيها جلايسين هو الحمض ذو النتروجين الطرفي.

ويمكن إثبات التابع الكامل بتحليل الببتيد جزئياً وفصل بببتيد ثنائي لا يحتوي على جلايسين ويتحتم أن يكون هذا إما Val-Ala أو Ala-Val ومرة أخرى يمكن استعمال كاشف DNFB لإثبات أي منهما هو الحمض الأميني ذو النتروجين الطرفي.

والطرق الكيميائية للتعرف على الحمض الأميني ذي الكربوكسيل الطرفي ليست ذات فعالية مثل الطريقة التي شرحت من قبل للحمض الأميني ذي النتروجين الطرفي. وعلى كل حال فهناك أنزيمات معينة ذات تخصص عالٍ في تحليل الببتيدات ويمكن استعمالها في تحديد التابع.

وإنزيم كربوكسي ببتيداز له قدرة اختيارية على تحلل روابط الببتيد المجاورة لمجموعة كربوكسيل حرة ويمكنه أن يفتت سلسلة بببتيد بمعدل وحدة حمض أميني من الطرف الكربوكسيلي في كل مرة.

ويمكن للمرء أن يتابع التفاعل كدالة للوقت عن طريق سحب عينات وتعيين محتوى نواتج التحلل من الأحماض الأمينية باستعمال طرق الكروماتوجرافي. الحمض الأميني الذي يظهر أعلى تركيز أولاً يكون هو الحمض الأميني ذو الكربون الطرفي.

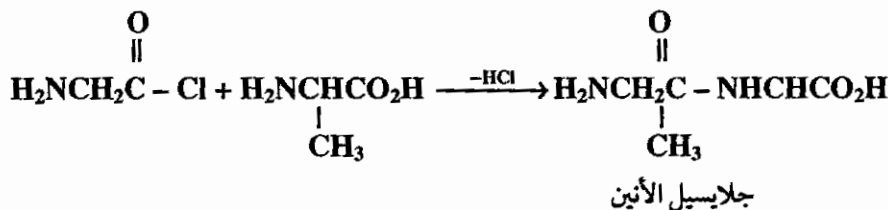
وإنزيم تريسين يحلل البروتينات عند طرف الكربونيل لوحدة لايسين وأرجنين، بينما أنزيم كيمو تريسين فيشط البروتينات عند طرف الكربونيل لوحدة تيروزين وفينيل الأئين.

كما أن تحديد التركيب الأولى للبروتين هو مشكلة تم الآن حلها من حيث المبدأ. ولو أن مهمة تحديد تركيب أي بروتين معطي تكون صعبة وطويلة. ولكن كل عام يجلب معه نجاحات جديدة.

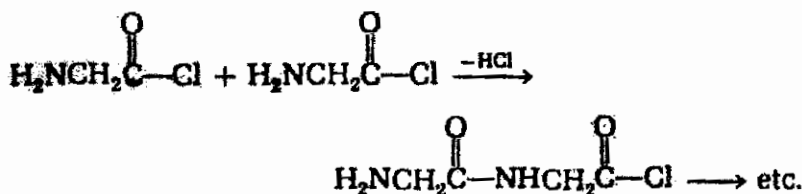
فلنأخذ مشكلة تخليق جلايسيل الأئين كمثال. ليس عملياً أن نسخن مخلوط من كميات متساوية من الحامضين الأمينيين لأن ذلك يعطي ناتج عبارة عن مخلوط غير ذي فائدة لا

يحتوي فقط على Gly-Ala ولكن أيضًا Ala-Gly وبيتيدات ثلاثية وخلافه وثنائي كيتوبيريزينات مختلفة ولذا فإتباع طريقة غير مباشرة يصبح ضروريًا.

وقد يفكر البعض في تنشيط مجموعة كربوكسيل الجلايسين في البداية بتحويلها إلى كلوريد الحمض وبعدها يمكن معالجته بالألانين ليكون رابطة بيتيدية .

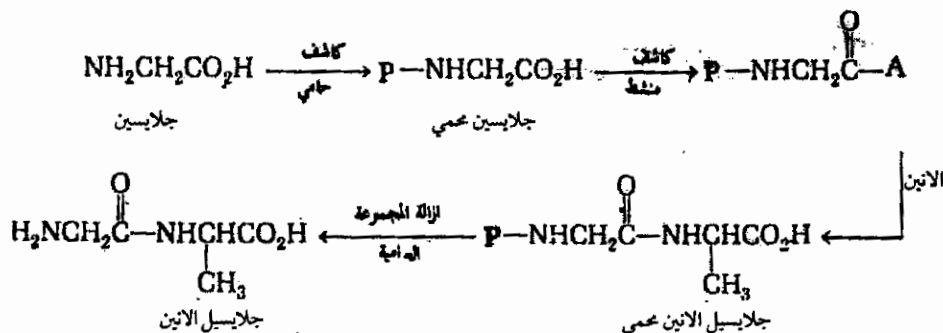


ولسوء الحظ فإن هذه الطريقة أيضًا تفشل حيث أن كلوريد الحمض الأميني ثنائي الفعالية ويمكنه تكوين بوليمر.



ومن الواضح أن إحدى الطرق لتجنب هذه الصعوبات هي :

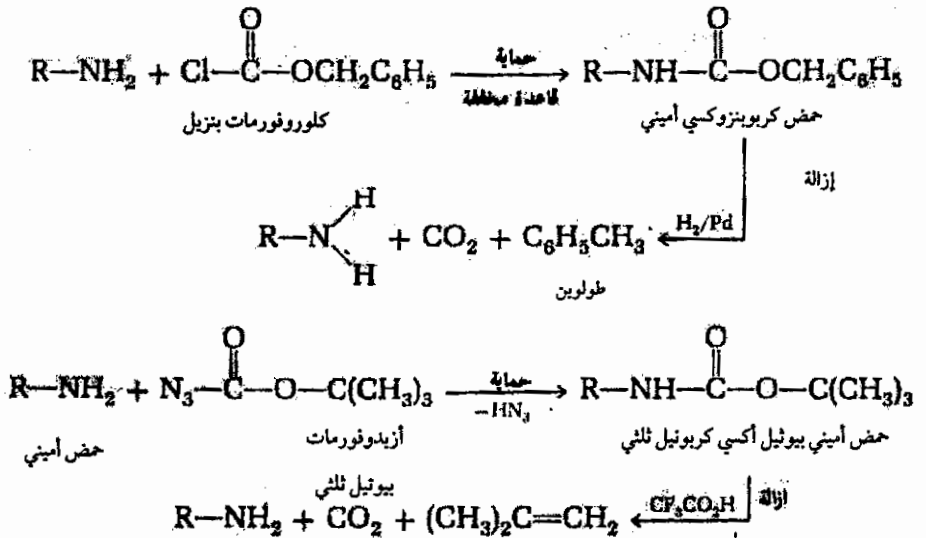
- (أ) حماية مجموعة الأمين للجلايسين . (ب) تنشيط مجموعة الكربوكسيل لهذا الجلايسين
(ج) استعمال هذا الجلايسين المحي المنشط لتكوين الرابطة الببتيدية مع الألانين و
(د) إزالة المجموعة الحامية.



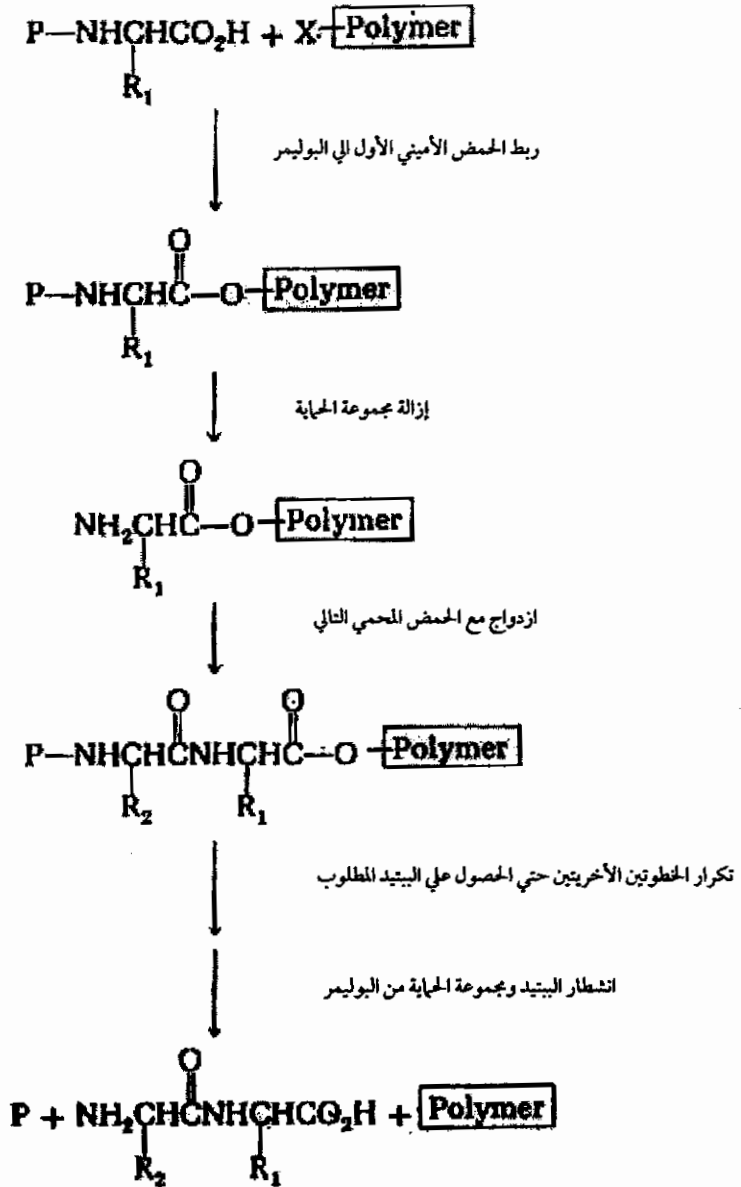
وعند الرغبة في تخليق بيتيدات أطول يمكن تأجيل الخطوة الأخيرة. ويمكن تنشيط جلايسيل جلايسين المحي ثم معالجته بحمض أميني ثالث. وتكرر العملية حتى يتم تخليق الببتيد المطلوب، ثم تزال المجموعة الحامية في الخطوة النهائية.

والمجموعة الحامية يجب أن تحول مجموعة الأمين إلى شكل بحيث لا تتفاعل مع مجموعة الكربوكسيل المنشطة ويجب أن يكون من السهل إزالتها عند انتهاء تخليق الببتيد بطريقة لا تؤدي إلى تحلل الروابط الببتيدية أو التفاعل مع أي من المجموعات الفعالة في السلاسل الجانبية للحمض الأميني.

وهناك مجموعات حماية كثيرة معروفة: أكثرها استعمالاً هي مجموعات كربونزوكسي (بنزويل أكسي كربونيل) وبيوتيل أكسي كربونيل ثلثي. والتفاعلات التي تحمي مجموعة الأمين والتي تستعمل لإزالة المجموعة الحامية موضحة في المعادلات التالية وفي كل حالة تجري حماية مجموعة الأمين بتحويلها إلى مجموعة الأמיד الأقل نيوكليوفيلية.



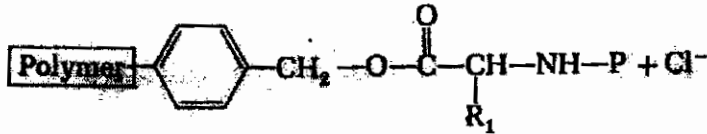
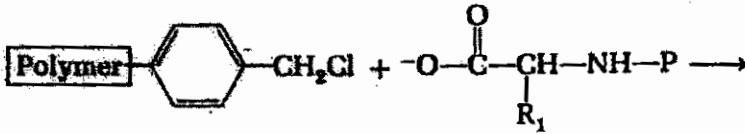
وفي العادة تخلق البروتينات الكبيرة عن طريق تحضير بيتيدات صغيرة (تحتوي كل منها على 6-15 وحدة حمض أميني مثلاً) ثم تربط هذه الببتيدات ببعضها. وفي هذه الطريقة فإن أي خطأ في الترتيب عند مرحلة لا يفسد التخليق كله.



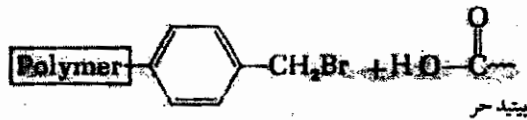
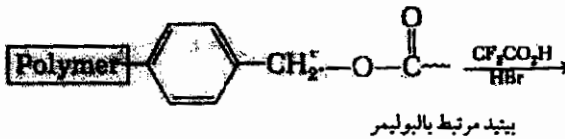
إحدى الصعوبات في الطرق التي تم شرحها هي أنه يجب تنقية النواتج البسيطة في كل مرحلة وإزالة الكواشف غير المتفاعلة غير المرغوبة (HCl, NaCl, NH₄Cl, ...) وقد تحطت طريقة تخليق الببتيدات في الحالة الصلبة هذه المشكل بذلك. وقد استعملت طرق متعددة لربط وحدة الحمض الأميني الأول بالبوليمر. وفي الحالة

المثالية تكون المادة الصلبة المستعملة (الدعامة الصلبة) هي بوليمر مشترك من ستايرين وثنائي فاينيل بنزين يكون فيه حلقات البنزين قد تحولت إلى مجموعات بنزلة كلوريد.

وهذه تتفاعل مع الحمض الأميني المحي مكونة استر بنزلة كما بالمعادلة التالية وفي نهاية عملية التخليق يعلق البيتيد - بوليمر في حمض ثلاثي فلورواسيتيك لا مائي ويمرر بروميد هيدروجين ببطء خلال المعلق .



وهذا يجر البيتيد من المادة الراتنجية بدون انشطار أي من الروابط البيتيدية كما يلي :



الخواص الكيميائية للبروتينات :

البروتينات، مثل الأحماض الأمينية، مترددة أو أمفوتيرية، وهذا السلوك لا يرجع فقط إلى مجموعات الأمين والكربوكسيل الطرفية ولكن أيضًا لمجموعات حامضية وقاعدية في سلاسل جانبية معينة.

والبروتينات لها نقاط التساوي الكهربائي التي تعتمد على عدد الأحماض الأمينية الموجودة بها سلاسل حامضية أو قاعدية. وتتراوح نقاط التساوي الكهربائي بين الحامضية والمتعادل.

وحيثما توضع البروتينات في مجال كهربائي فسوف تتحرك تجاه أحد الأقطاب. ويعتمد اتجاه الحركة وسرعتها على نقطة التساوي الكهربائي والأس الهيدروجيني للوسط. وتسمى هذه الطريقة الكلتروفوريسس وتستعمل لفصل البروتينات من المخاليط وتنقيتها .

تغير طبيعة البروتينات تعرف بأنها تغيير يؤدي إلى تشقق التركيب الفراغي وهو التركيب الثانوي أو الثلاثي للبروتين ولكنه لا يشطر أي روابط ببتيدية. فمثلاً يمكن أن يؤدي تغيير الأس الهيدروجيني إلى تغيير في الروابط الهيدروجينية أو الروابط الملحية التي قد تسبب تشقق في هية التركيب المجسم أو اللولي للبروتين.

واختزال روابط ثنائي الكبريتيد إلى مجموعات $-SH$ يمكن أن يفتح لفات التركيبات البروتينية. ويستفاد من هذا التفاعل في تسريحات الشعر الدائمة. ويحتوي البروتين في الشعر على نسبة عالية من الحمض الأميني سستين.

ويستعمل أولاً غسول مختزل لشطر الروابط $-S-S-$. ثم يوضع الشعر المختزل على مشابك تجعيد الشعر ويشد حسب الترتيب المطلوب ثم يعامل بغسول مؤكسد ليعيد بناء روابط $-S-S-$ بنظام مختلف وهذا يسبب تماسك الشعر بالتجعيدة المطلوبة ولو أنها ليست دائمة بالمعنى الحقيقي حيث أن الشعر ينمو.

وبعض عمليات التغيير في طبيعة البروتينات تكون عكسية. فبعض إنزيمات معينة يمكنها مثلاً أن تترسب من محلول مائي بواسطة كبريتات الأمونيوم. وعندما يعاد إذابتها فإن الإنزيم يمكنه استرجاع شكله الأصلي ونشاطه المحفز. وفي بعض الحالات الأخرى مثل تجلط زلال البيض عند التسخين لا يكون التغيير في طبيعة البروتينات انعكاسياً.

الأسئلة

- 1- عرف أو وضح الصيغة التركيبية لكل من ما يلي:

(أ) رابطة بيتيد	(و) أيون ثنائي القطبية
(ب) حمض أميني قاعدي	(ز) الترتيب الفراغي
(ج) حمض أميني حامضي	(ح) ثنائي بيتيد
(د) حمض أميني أساسي	(ط) بيتيد أوليجو
(هـ) نقطة تساوي كهربائي	(ي) بيتيد عديد
- 2- ارسم كل التراكيب التي تساهم في هجين الرنين الالكتروني لأرجينين. اشرح لماذا جوانيدين أكثر قاعدية من مجموعة أمين بسيطة.
- 3- اكتب المعادلات التي توضح تفاعل الأئين مع كل من:

(أ) حمض هيدروكلوريك	(ب) هيدروكسيد صوديوم
---------------------	----------------------

 إذا وضعت أقطاب كهربائية، في أي من المحلولين سوف يهاجر آلانين إلى الكاثود؟
- 4- اكتب المعادلات التي تبين التغيرات المحتملة عند جعل محلول قاعدي رقوي من لايسين حامضياً اشرح لماذا تقع نقطة التساوي الكهربائية للايسين على الجانب القاعدي (pH 9.7) ؟
- 5- يحتوي ناتج تحلل بيتيد على الأحماض الأمينية الثلاثة: جلايسين ، أرجينين وحمض جلوتاميك . ثم وضع المخلوط على عمود المحلل الأوتوماتيكي للأحماض الأمينية وأممر محلول منظم عند اس هيدروجيني 4.5 . اذكر الترتيب الذي تنشق فيه الأحماض من العمود ولماذا ؟

6- اكتب المعادلات التي توضح ماذا يحدث عند معالجة فينيل آلانين بنهيدرين.

7- اذكر معادلاتن لتحضير كلاً من:

- (أ) الأين من حمض برويونيك
 (ب) فالين من أيزوبيوتير الدهيد
 (ج) جلايسين من حمض أسيتيك
 (د) ليوسين من كلوريد أيزوبيوتيل

8- اكتب معادلات لتفاعل الأين مع كل من الكواشف التالية:

- (أ) حمض نيتروز
 (ب) كلوريد بنزويل
 (ج) الحرارة
 (د) انيهدرين أسيتك
 (هـ) إيثانول ، H^+

9- اكتب الصيغ التركيبية للبتيدات التالية:

- (أ) جلايسيل الأنيل جلايسين
 (ب) هستيديل فالين
 (ج) أيزوليوسيل
 (د) اسبراتيل تربتوفان

10- ارسم التراكيب لكل الثلاثي بتيدات الأيزوميرية المحتملة لجلايسيل الأنيل سيرين.