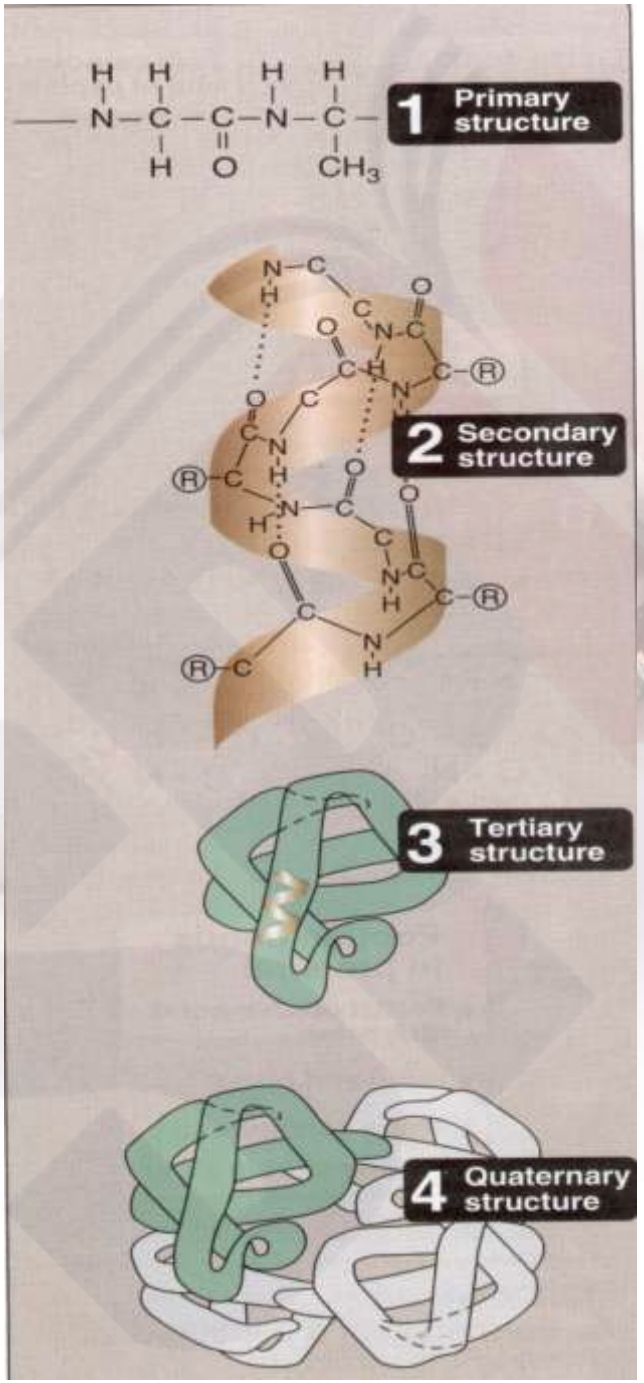
Structure of Proteins 2

تركيب البروتينات ٢

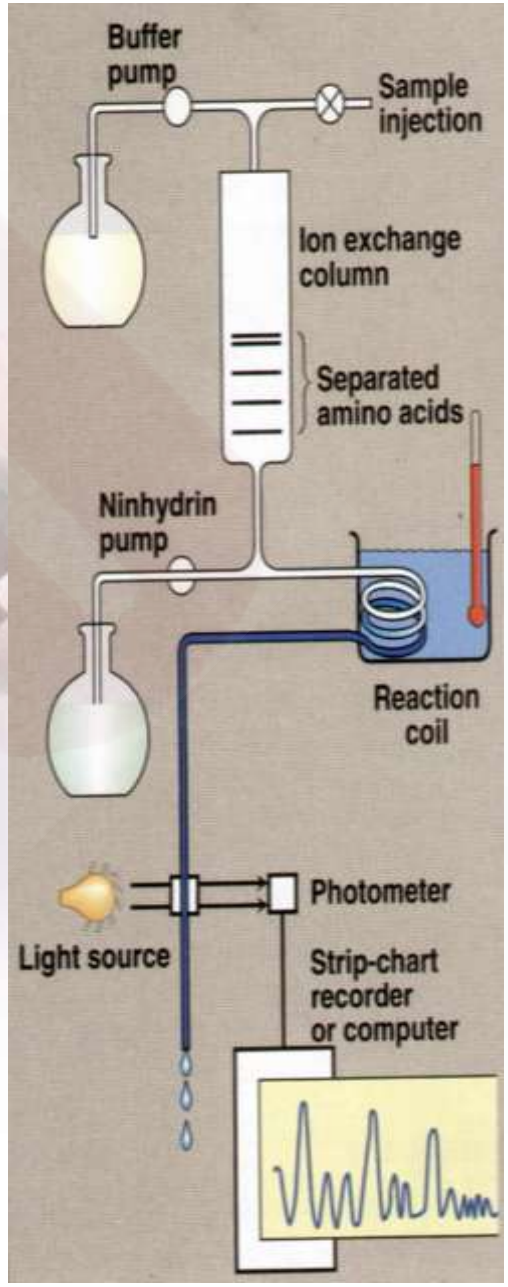

1 Primary structure
2 Secondary structure
3 Tertiary structure
4 Quaternary structure

تحليل الحموض الأمينية

- الخطوة الأولى في تحديد البنية الأولية للبروتين هي تحديد نوع و كمية الحموض الأمينية المكونة لعديد الببتيد.
- تؤخذ عينة نقية من البروتين وتوضع في وسط حمضي قوي بدرجة حرارة ١١٠ درجة مئوية ولمدة ٢٤ ساعة مؤدية إلى فصم الروابط الببتيدية وتحرير الحموض الأمينية الحرة.
- ثم تجرى عملية فصلها بطريقة الكروماتوغرافيا ذات التبادل الشاردي الموجب، كما في الشكل التالي:

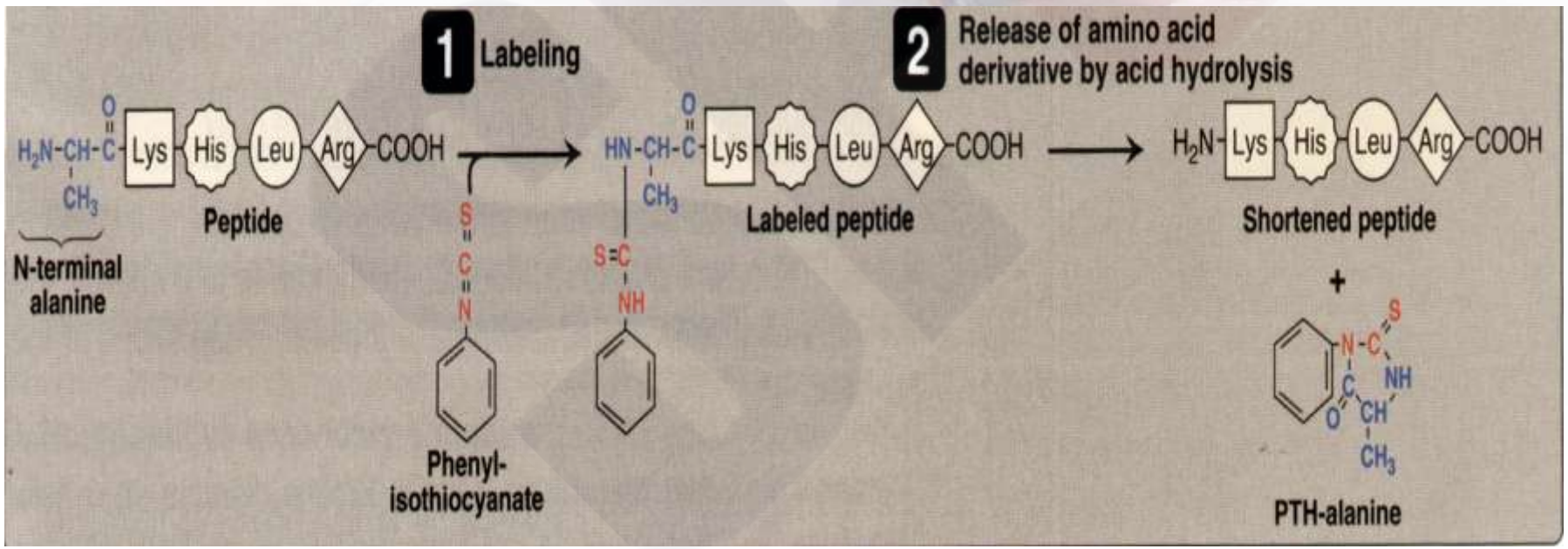
يتم تمرير العينة في عمود زجاجي يحتوي على مادة الريزن التي ترتبط بألفة شديدة بالمركبات المشحونة سلباً، وبذلك ترتبط الحموض الأمينية مع عمود التبادل الشاردي بشدات مختلفة لتنفصل عنه عند تمرير السائل المحل بتسلسل متتالي بحسب درجة الـ pH ونوع وشدة الشحنة الكهربائية.

ومن ثم يتم تحديد نوع وكمية كل حمض أميني عند مروره أمام منبع ضوئي يعتمد على قياس الطيف الضوئي وامتصاص الأشعة الضوئية لطول موجة كل منها، وفي النهاية تؤول جميع هذه النتائج إلى حاسوب مزود ببرنامج خاص يخوله ترجمة هذه المعطيات إلى قائمة بأنواع وكميات الحموض الأمينية المكونة للعينة البروتينية المراد تحليلها.



تسلسل الحموض الأمينية

يتم التعاقب التدريجي لعملية تحديد الحمض الأميني النوعي لكل موقع في السلسلة الببتيدية ابتداءً من الطرف النهائي N وذلك باستعمال كاشف فينيل إيزوتيوسيانات *(Edman)* الذي يعمل على إظهار الجذر الأميني النهائي ضمن وسط قلوي معتدل بحيث يحلمه بشكل انتقائي فقط الرابطة الببتيدية للنهاية N دون فصم باقي الروابط الببتيدية الأخرى كما في الطريقة التالية:



تقطيع عديد الببتيد

لحل مشكلة عجز كاشف *(Edman)* عن التفاعل مع السلاسل الببتيدية التي تحتوي بنيتها الأولية على أكثر من ١٠٠ حمض أميني، وبالتالي لايمكن تحديد تسلسل الحموض الأمينية في مثل هذه السلاسل الضخمة بشكل مباشر من النهاية حتى النهاية، نلجأ إلى تقطيعها في عدة مواقع محددة إلى قسيمات صغيرة ليجري تحليل كل واحدة على حدة بوساطة أكثر من كاشف، وفي النهاية تجمع النتائج وفق تسلسلها الأساسي.

تحديد البنية الأولية للبروتين بوساطة تسلسل الـ DNA

تسلسل النيكليوتيدات في شيفرة الـ DNA هو الذي يحدد التسلسل النوعي للحموض الأمينية في البروتين، لذلك إذا تم تحديد تتابع النيكليوتيدات فيمكن ترجمته إلى تسلسل نوعي وموافق من الحموض الأمينية.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

الـ PCR تقنية حديثة ومتطورة جداً بحيث تخول الباحثين من تضخيم الـ DNA ، وذلك بصنع نسخ متعددة من جزيء واحد من الـ DNA خلال وقت قصير جداً، ويكفي لتحليل الـ DNA بهذه التقنية بمجرد الحصول على شعرة أو نطفة وحيدة فقط.

للـ PCR مجال واسع في الاستعمالات السريرية ، فيمكن استخدامها:

- للكشف عن الطفرات المؤدية للسرطان
- لتشخيص الأمراض الوراثية
- للتحري عن وجود فيروس الـ HIV (الإيدز)
- لمتابعة المعالجة الكيماوية للسرطان
- وللتعرف السريع على الأمراض الإنتانية

طي البروتينات

- تتم عملية طي البروتين داخل الخلايا في ثوان أو دقائق معدودة ، حيث تعتمد هذه العملية على جذب أو تباعد السلاسل الطرفية للحموض الأمينية بناءاً على خصائصها الكيميائية.
- السلاسل السالبة تنجذب نحو الموجبة والسلاسل المتماثلة تتنافر.
- التفاعلات التي تتضمن روابط هيدروجينية أو التفاعلات الكارهة للماء والروابط ثنائية الكبريت تسعى بدورها إلى التأثير على عملية الطي.
- تستمر التجربة لاختبار عدد كبير من التراكيب بهدف التوصل إلى وضع تتفوق به قوى التجاذب على قوى التنافر.

دور البروتينات الناظمة (الشابيرونات) في عملية طي البروتين

- يتطلب إتمام عملية الطي بشكل صحيح لعدة أنواع من البروتينات منها مجموعة من البروتينات المتخصصة تسمى (البروتينات الناظمة) *(الشابيرونات - CHAPERONES)*.
- يبدأ البروتين بالانطواء على مراحل خلال عملية تشكيله بدلاً من الانتظار حتى اكتمال تشكيل السلسلة.
- تلعب بعض هذه البروتينات دوراً في منع طي البروتين إلى حين تصنيعه بشكل كامل أو دور محفزات من خلال زيادة معدلات المراحل النهائية في عملية الطي وبعضها في حماية البروتين خلال عملية الطي.

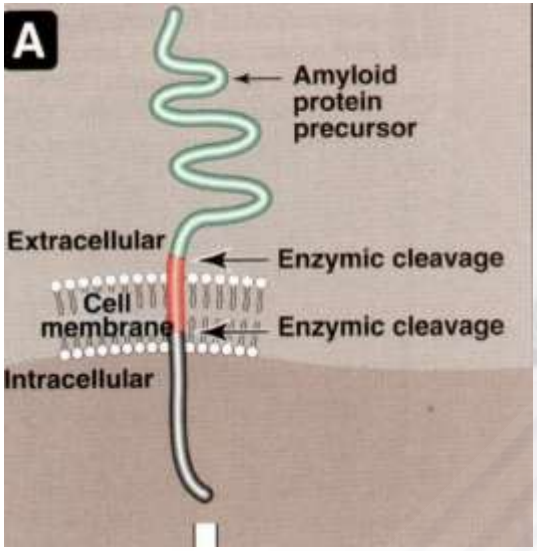
اضطرابات تكوّن البروتينات

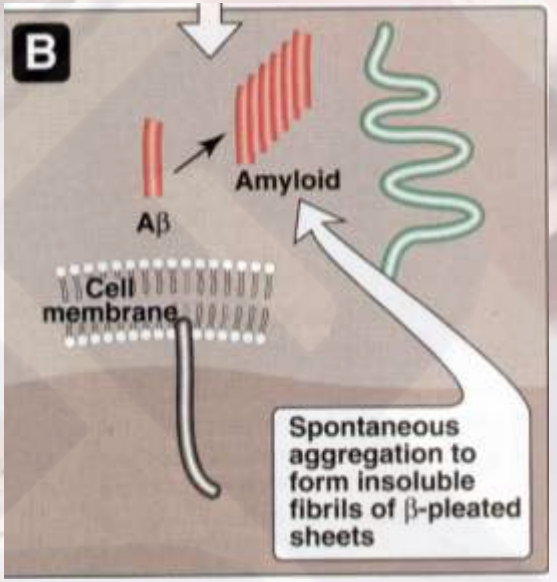
- تشكل البروتينات عملية معقدة، فيمكن أحياناً أن يحصل خطأ أثناء تشكلها مما يؤدي إلى إنتاج جزيئات بروتينية غير سليمة، تكوّن هذه البروتينات (غير المترابطة) عادة مزقاً وتفككاً ضمن الخلية.
- ويمكن أن تتراكم هذه الجزيئات ناقصة التركيب في أماكن متفرقة من الخلية وخاصة عند الأشخاص المسنين مسببة عدداً من الأمراض الوراثية منها الداء النشواني.

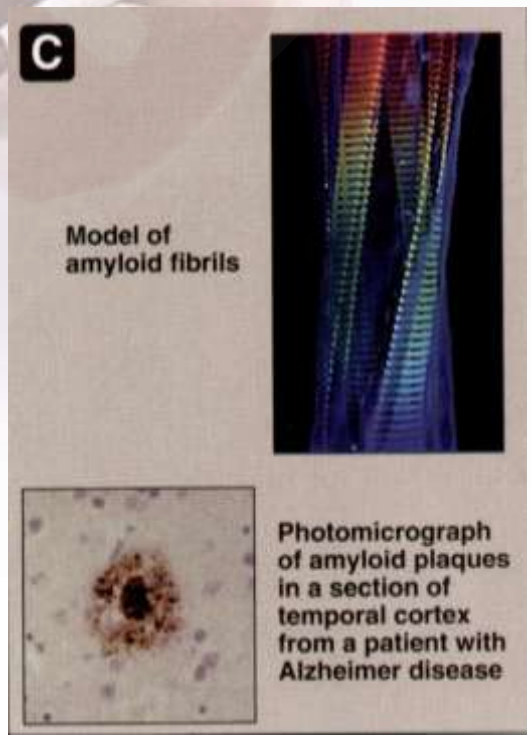
الداء النشواني
Amyloïdoses

اضطراب طي البروتينات يمكن أن يحصل بشكل تلقائي أو بسبب طفرة وراثية والتي ينتج عنها بروتين مغاير. وغالباً ما يحدث ذلك في البروتينات الليفية بحيث تتراكم صفائح الوريقة المثناة β في البنية الثانوية للبروتين مشكلة ما يدعى (النشوان) وهو المسبب الرئيس للعديد من الأمراض الانحلالية وبشكل خاص الاضطرابات العصبية الانحلالية (مرض الزهايمر).

- لهذه التراكمات من صفائح الوريقة المثناة تأثيراً ساماً على الجملة العصبية مسبباً تحولات وراثية تؤدي بدورها إلى خاصية ضعف الإدراك والذاكرة في هذا المرض.
- معظم حالات مرض الزهايمر لا تكون وراثية المنشأ على الرغم من أن ٥-١٠ % من الحالات تكون ذات طابع عائلي.


A
Amyloid protein precursor
Extracellular
Enzymic cleavage
Cell membrane
Enzymic cleavage
Intracellular


B
Amyloid
Aβ
Cell membrane
Spontaneous aggregation to form insoluble fibrils of β-pleated sheets


C
Model of amyloid fibrils
Photomicrograph of amyloid plaques in a section of temporal cortex from a patient with Alzheimer disease

داء الـ (Prion)

يعتبر بروتين البريون *Prion protein (PrP)* العامل المسبب الرئيس للاعتلالات الدماغية الاسفنجية السارية متضمنة مرض *Creutzfeldt-Jakob)* عند الإنسان، ومرض *(scrapie)* عند الماشية، وأيضاً مايدعى بمرض جنون البقر *(mad cow disease)*.

- يكون هذا البروتين مقاوماً بشكل كبير للتحللات البروتينية وعندما يكون ممرضاً ينطوي ليشكل التجمعات الليفية غير القابلة للانحلال.
- الشكل الممرض منه يملك نفس تسلسل الحموض الأمينية والسلاسل الوراثية للشكل غير الممرض.
- ولكن لوحظ أن عدداً من التشكلات الحلزونية α الموجودة في الشكل غير الممرض من *PrP* قد استبدلت بالصفائح β في الشكل الممرض.

أي أن التبدلات المرضية لم تكن في البنية الأولية كالعادة وإنما تناولت البنية الثانوية للبروتين.

النهاية

THE END