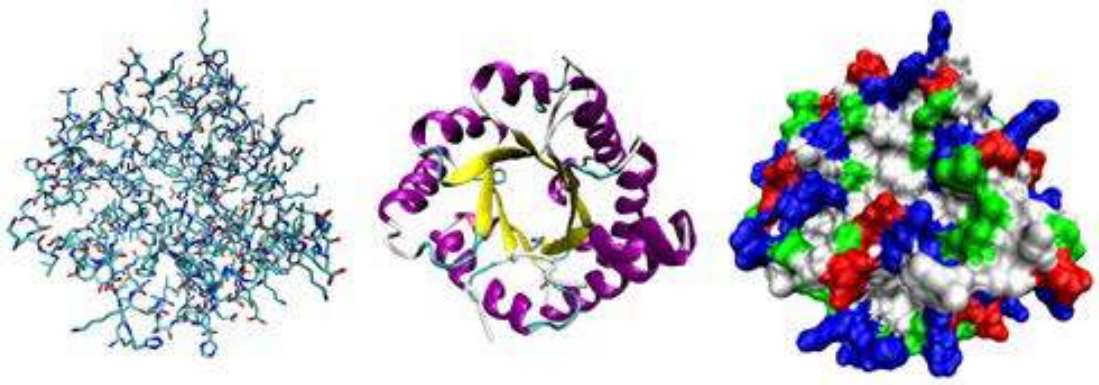
الوحدة الثانية

العلاقة بين بنية و وظيفة البروتين

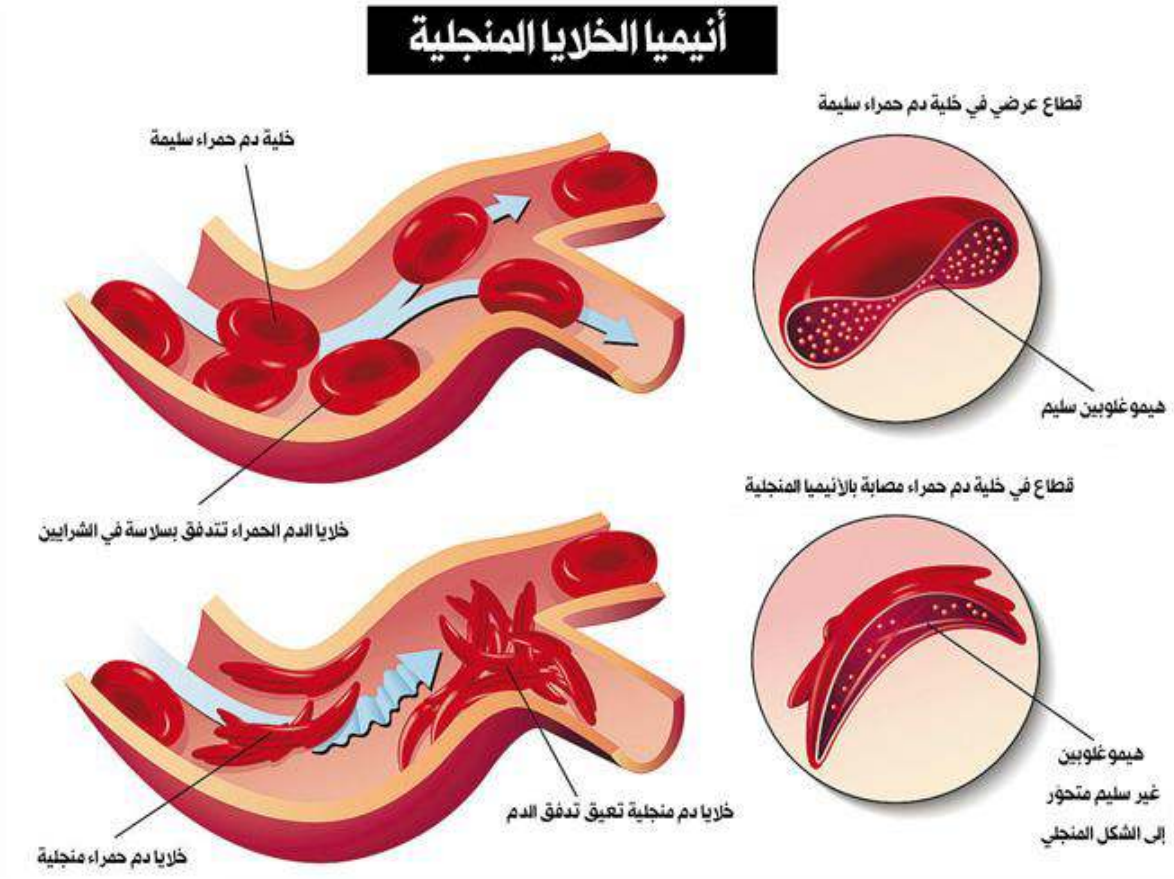


تهدف هذه الوحدة إلى معالجة المشكلات المتعلقة ببنية البروتين و علاقته بوظيفته في مختلف الجوانب

و هذا من خلال الأنشطة المدروسة حول بعض البروتينات وتركيبتها و كذلك طريقة دراسة بنيتها الفراغية باستخدام بعض البرامج الحديثة.

تذكير بالمكتسبات:

يعتبر مرض فقر الدم المنجلي من الأمراض الوراثية الخطيرة ، ناتج أساسا عن حدوث تغير في أحد الأحماض الأمينية بسبب طفرة وراثية أدت إلى تغير في البنية الفراغية للبروتين المتمثل في الهيموغلوبين مما عطل وظيفتها فأثر ذلك على شكل الكريات الدموية الحمراء و بالتالي انسداد الأوعية الدموية و كذلك نقص في عدد الكريات السليمة.



الوثيقة : إظهار شكل الخلايا المنجلية الناتجة عن حدوث خلل في بنية البروتين بسبب الطفرة الوراثية.

المـــــــــــــــــذكرة رقـــــــــــــــم (01) :

المجال (I): التخصص الوظيفي للبروتينات **الأستـــــــاذة:** بن الناصر خديجة.

الوحدة (02): العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين. **الفئة المستهدفة:** س. 3 ع.ت.

النشاط (01): العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين. **الحجم الزمني:** 6 ساعات.

الكفـــــاءة القـــــــاعدية رقم (I):

يقدم بناءا على أسس علمية – إرشادات لمشكل اختلال وظيفي عضوي بتجنيد المعارف المتعلقة بالاتصال على مستوى الجزيئات الحاملة للمعلومة .

الهدف التعلمي:

- **يحدد العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين.**

مؤشرات الكفاءة

- **يظهر العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين.**

الوسائل المستعملة

وثائق، كتاب مدرسي، سبورة، جهاز عرض (إن أمكن)

المعارف المستهدفة

- تسلك الأحماض الأمينية سلوك الأحماض (يفقد بروتونات) وسلوك القواعد (تكتسب بروتونات) وذلك تبعا لدرجة حموضة الوسط لذلك تسمى بمركبات أمفوتيرية (حمقلية)
- ترتبط الأحماض الأمينية المتتالية في سلسلة ببتيدية بروابط تكافؤية تدعى الروابط الببتيدية (CO-NH).
- تختلف الببتيدات عن بعضها بالقدرة على التفكك ألشاردي لسلاسلها الجانبية التي تحدد طبيعتها الأمفوتيرية وخصائصها الكهربائية.
- تتوقف البنية الفراغية، وبالتالي التخصص الوظيفي للبروتين، على الروابط التي تنشأ بين أحماض أمينية محددة (جسور ثنائية الكبريت، شاردية،...)، ومتموضعة بطريقة دقيقة في السلسلة أو السلاسل الببتيدية حسب الرسالة الوراثية.

- تظهر البروتينات ببنيات فراغية مختلفة، محددة بعدد و طبيعة وتتالي الأحماض الأمينية التي تدخل في بنائها.
- تتكون جزيئات الأحماض α أمينيه من مجموعة وظيفية أمينيه قاعدية NH_2 ومجموعة وظيفية حمضية كربوكسيليQ COOH - مرتبطتان بالكربون α وهما مصدر الخاصية الأمفوتيرية .
- يوجد عشرون نوعا من الأحماض الأمينية تدخل في بنية البروتينات الطبيعية تختلف فيما بينها في السلسلة الجانبية(وجود وظائف قابلة للتأين).
- تصنف الأحماض الأمينية حسب السلسلة الجانبية إلى:
  - أحماض أمينيه قاعدية (ليزين، أرجنين ،هستدين)
  - أحماض أمينيه حمضية (حمض جلوتاميك، حمض أسبارتيك).
  - أحماض أمينيه متعادلة (سيرين، الغليسين، ...).

العرض (سير الدرس)	المدة الزمنية

1- وضعية الانطلاق:

- ما الهدف من التعبير المورثي؟
- ما هي الوحدة البنائية للبروتينات؟
- ما هو مصير البروتينات بعد تركيبها؟

1. تمهيد:

تهدف عملية التعبير المورثي إلى تركيب مختلف البروتينات ببنيات فراغية محددة و معقدة انطلاقا من الأحماض الأمينية بفضل المعلومات الوراثية الخاصة بكل بروتين، لتتمكن من أداء وظيفتها.

2. الوضعية المشكلة:

فيما تتمثل العلاقة بين بنية ووظيفة البروتين، و ماذا الذي يحدد بنيته الفراغية؟ و كيف يمكن دراستها؟

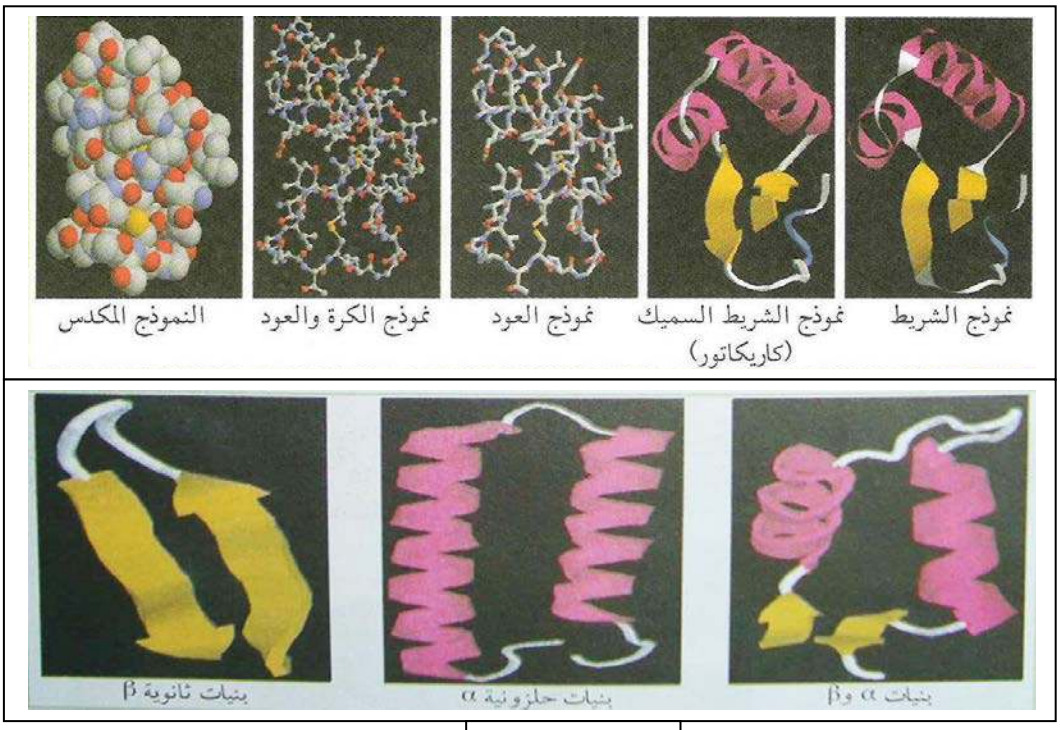
3. الفرضيات: ف1: يحدد عدد و نوع و تتابع الأحماض الأمينيية البنية الفراغية للبروتين.

ف2: يمكن دراسة بنيتها بفضل برامج محاكاة على الحاسوب .

4. التقصي:

1.4. استعمال الحاسوب في دراسة بنية البروتين:

دراسة الوثيقة (2) و (3) ص 41:



الوثيقة (1)

الأسئلة:

س1: حدد في جدول مختلف النماذج لتمثيل البنية الفراغية للبروتين ؟

س2: حدد فوائد استعمال برنامج الراستوب Rastop.

الإجابة:

ج1: النماذج:

النموذج	الهدف منه
– نموذج العود Bâtonnets	التعرف على أنواع الذرات عددها والروابط التي تربطها
– النموذج المكدس Sphères	التعرف على أنواع الذرات المكونة للجزيئ وحجم الجزيئ
– نموذج الكرة والعود Boules et bâtonnets	توضيح أنواع الذرات عددها والروابط التي تربطها وكيفية الربط إما أحادية أو ثنائية
– نموذج الشريط Rubans	توضيح أنواع البنيات الثانوية ألفا و B ومناطق الانعطاف (مناطق البينية) لتشكيل (داخلة) في البنية الثالثية يسمح بمقارنة البنيات الفراغية للبروتينات.
والشريط السميك Caricatures	يشبه النموذج الشريطي الا انه يزيد عنه بتحديد اتجاه البنية الثانوية B وبتالي يسمح بالتعرف على بداية ونهاية السلسلة البيبتيدية يسمح بمقارنة البنيات الفراغية للبروتينات.

ج2: فوائد و مزايا استعمال برنامج الراستوب:

يسمح البرنامج RASTOP بإعطاء عدة نماذج تصور وتعكس بناء البروتين بشكل مفصل حيث يمكن :

– تغيير نموذج العرض بسهولة والاستفادة من مزايا ومميزات كل نموذج.

– تحديد وضع الذرات والأحماض الأمينية في البنية الفراغية للبروتين.

– تعيين وإبراز الجذور الجانبية للأحماض الأمينية في السلاسل البروتينية.

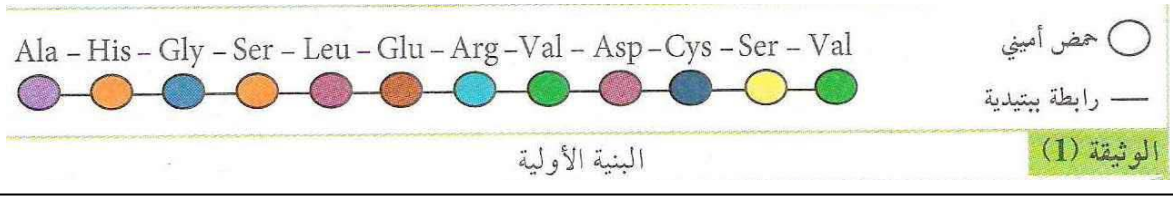
– معرفة وتحديد البنيات الثانوية ومناطق الانعطاف وعددها في البروتين.

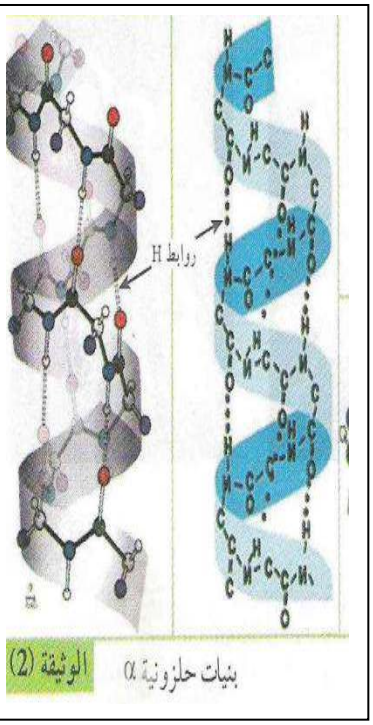
– تحديد المواقع الفعالة في البروتين وطريقة الارتباط بمواد التفاعل.

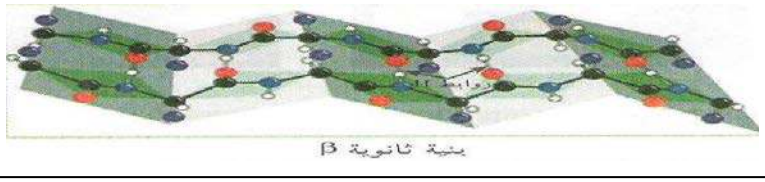
– تدوير الجزيئات في كل الاتجاهات ما يسمح بالحصول على نظرة ثلاثية الأبعاد.

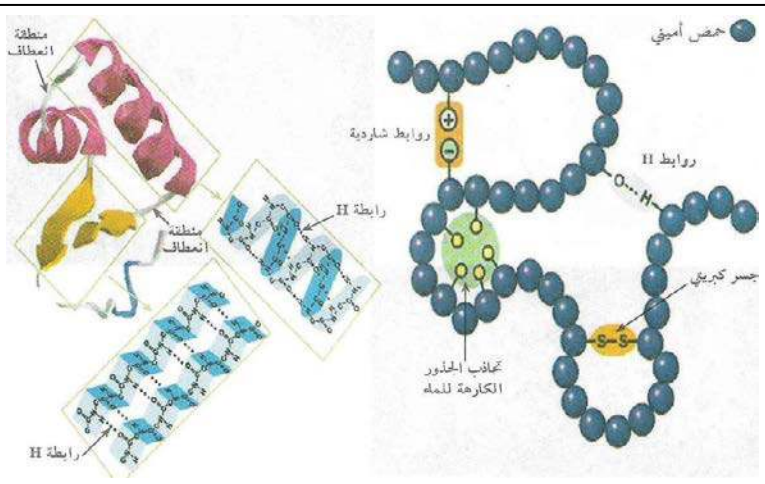
2.4. مستويات البنية الفراغية للبروتينات:

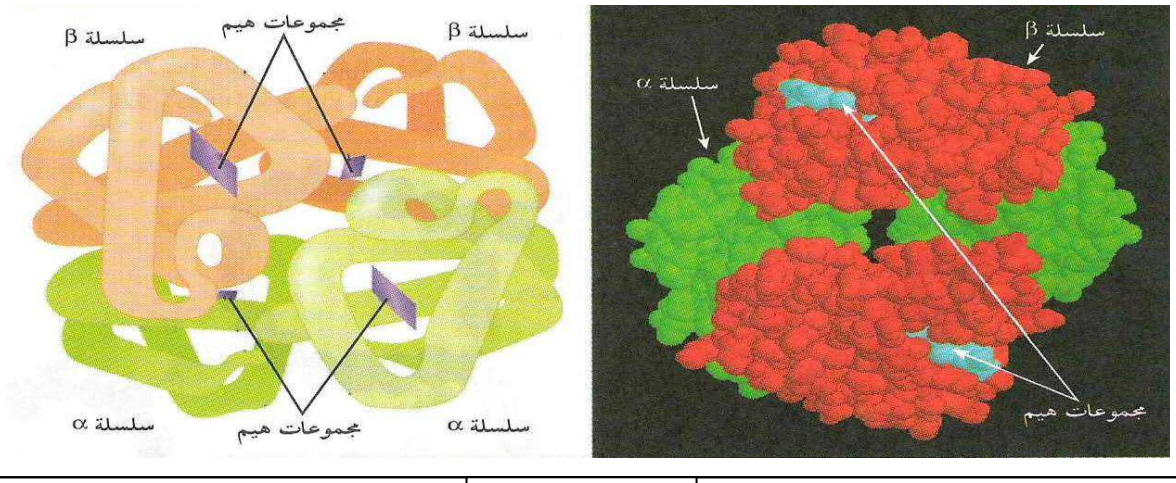
دراسة الوثائق (1) و (2) و (3) و (4) ص 42 ، 43 و 44:











الوثيقة (2)

الأسئلة:

س1: من خلال الوثائق الموضحة لمستويات الأربع ، بين كيف يمكن الانتقال من البنية الأولية إلى غاية البنية الرابعية للبروتينات.

س2: ما هي البنية الأكثر تعقيدا؟ علل ذلك.

الإجابة:

1. ج1: العلاقة بين مستويات البنية الفراغية:

تتكون البنية الأولية للبروتينات بتتابع وترتيب عدد وأنواع من الأحماض الأمينية في السلسلة البروتينية (الببتيدية) مرتبطة فيما بينها

بروابط ببتيدية ، عند التفاف أو انطواء هذه السلسلة في مناطق محددة نتيجة الروابط الهيدروجينية بين المجموعات ($-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-$) و ($-\overset{H}{\underset{|}{N}}-$) للروابط الببتيدية للأحماض المتباعدة يأخذ جزيء البروتين بعدا ثانيا فتوصف البنية بالثانوية و نميز فيها نوعين : – البنية الحلزونية α (الشكل الحلزوني) . – البنية الثانوية β (شكل وريقات مطوية).

وعند انثناء السلاسل ذات البنية الثانوية بشكل منتظم أو غير منتظم و يضم مناطق بينية تعرف بمناطق الانعطاف يصبح لجزيء البروتين بعد ثالث أكثر تعقيدا من سابقه فتوصف بنيته بالثالثية تحافظ على استقرارها بواسطة مجموعة من الروابط (روابط هيديروجينية ، روابط ملحية شاردية ، تجاذب جذور كارهة للماء و جسور كبريتية (ناتجة عن جذرين لحمضين أمينيين من نوع Cys و هي رابطة قوية)) وعندما ترتبط سلسلتين أو أكثر ذات بنية ثالثية بطريقة ما يأخذ البروتين الناتج بنية رابعية.

ج2: تعتبر البنية الرابعية أكثر تعقيدا كونها تجمع بين سلسلتين ببتيديتين أو أكثر لكل منهما بنية ثالثية ، حيث تسمى كل سلسلة بتحت وحدة ترتبط فيما بينها بروابط هيديوجينية و شاردية و كارهة للماء (روابط ضعيفة).

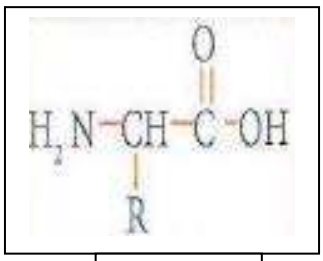
ملاحظة:

لا تملك جميع البروتينات هذه البنية فهي تخص عددا معينا منها في حين يكتفي العدد الآخر من البروتينات بالبنية الثالثية الحد الأدنى (أقل عدد) لتحت الوحدات في بنية البروتينات الرابعية هو اثنين لأنه أقل من تحت وحدتين (أي تحت وحدة فقط) تكون بنيتها ثالثية والحد الأقصى لتحت الوحدات (أكبر عدد) في بنية البروتينات الرابعية غير محدود.

3.4. دراسة الأحماض الأمينية:

أ– الصيغة الكيميائية العامة للأحماض الأمينية :

دراسة الوثيقة (2) ص47:



الوثيقة (3)

س1: قدم تعريفا للأحماض الأمينية.

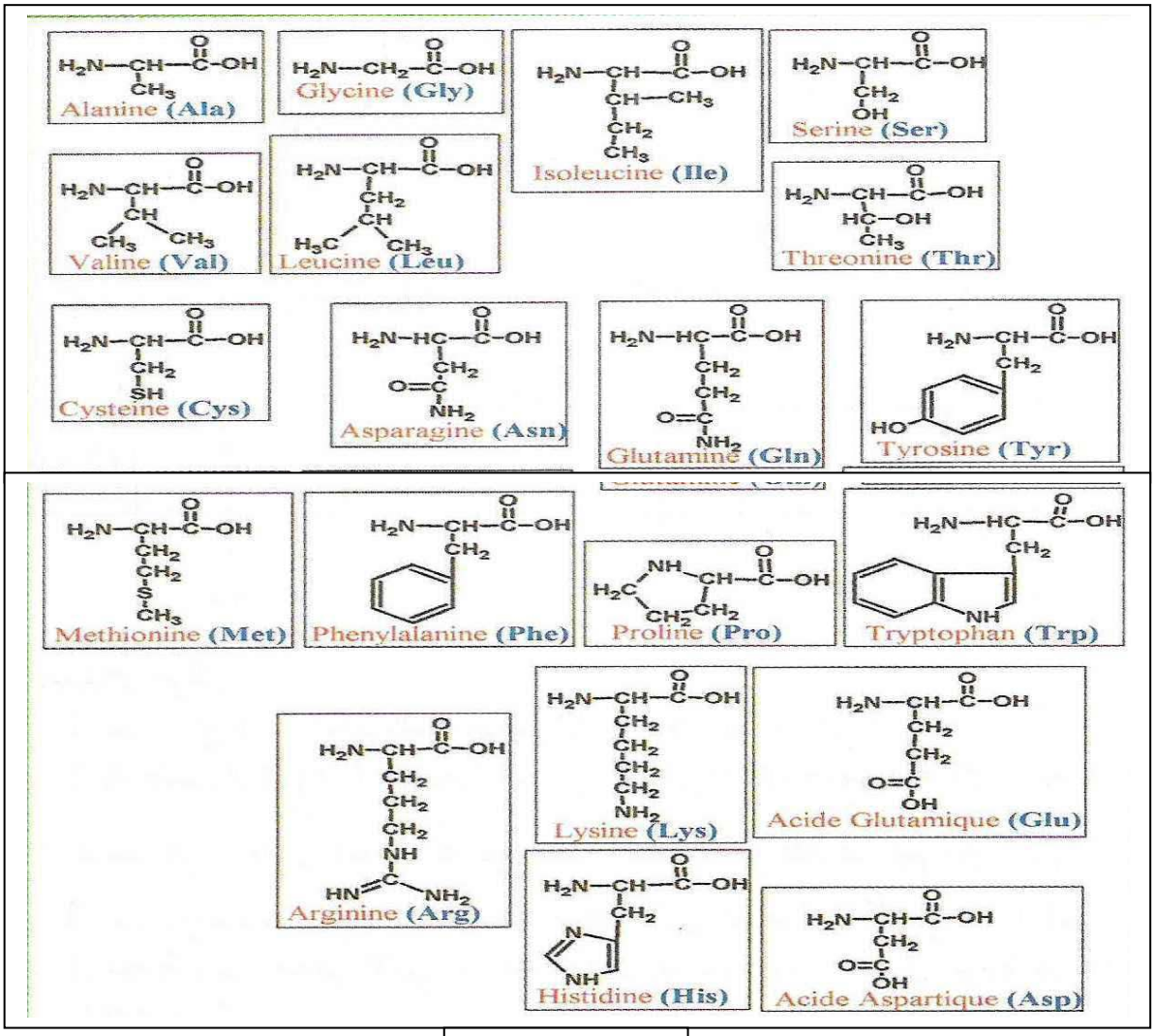
ج1: التعريف:

هي مركبات عضوية تتكون من وظيفتين كربوكسيلية و أمينية مرتبطتان بكربون مركزي الذي بدوره يرتبط به الجذر الألكيلي.

ب– تصنيف الأحماض الأمينية:

دراسة الوثيقة (3) ص 47:

بينت التحاليل الكيميائية الخاصة بتنوع الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات وجود 20 نوع حمض أميني موضحة في في الوثيقة التالية:



الوثيقة (4)

الأسئلة:

س1:تعرف على ابسط واعقد حمض اميني في الوثيقة .

س2: قارن بين جذري الحمضيــن الامينيين Serو Thr .

س3: تعرف على الأحماض الامينية الكبريتية والعطرية .

س4: حدد الأحماض الامينيـة ذات الجذر الحامضي والقاعدي .

س5: يصنف الـ Ala ضمن الأحماض الامينية المتعادلة . علل ذلك ؟

س6:اعتمادا على الجزء المتغير صنف الأحماض الأمنية العشرين .

الإجابة:

ج1:**ابسط حمض اميني هو** : الغليسين (Gly) حيث الجذر H .

اعقد حمض اميني هو : التربتوفان(Trp) حيث الجذر حلقتان .

ج2: **المقارنة** : يشتركان في كونهما كحوليان (OH) .

الثريونين يفوق السيرين با لـ CH_3.

ج3: الاحماض الامينية الكبريتية هي : Met و Cys .

الاحماض الامينية العطرية هي : Trpو Phe و Tyr .

ج4: الاحماض الامينية ذات الجذر الحمضي : Glu و Asp.

الاحماض الامينية ذات الجذر القاعدية :Lys و Arg و Glutamine Gln Asn. His

ج5: التعليل : الالانين يصنف ضمن الاحماض الامينية المتعادلة لان جذره لا يحوي وظيفة حمضية أو قاعدية .

ج6: تصنيف الاحماض الامينية : اعتمادا على الجزء المتغير(الجذر الالكيلي R) يمكن تصنيف الأحماض الأمنية إلى:

- احماض امينية متعادلة : تحتوي على وظيفة (او زمرة) امينية و الاخرى حمضية
- احماض امينية حمضية : (تحتوي على وظيفة حمضية إضافية في الجذر)
- احماض امينية قاعدية : (تحتوي على وظيفة قاعدية إضافية في الجذر)
- احماض امينية عطرية : تحتوي في جذرها على حلقة عطرية (سداسية الشكل)
- احماض امينية كبريتية : تحتوي في جذرها على الكبريت
- احماض امينية كحولية : تحتوي في جذرها على وظيفة كحولية OH.

4.4. سلوك الأحماض الأمينية:

دراسة (1) ص48:

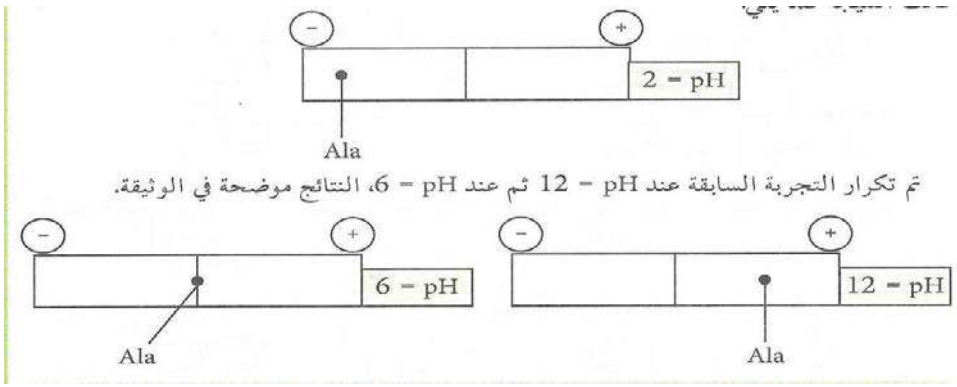
تجربة: لغرض تحديد شحنة الحمض الاميني الانين Ala (دراسة سلوكه) نعتمد على تقنية الهجرة الكهربائية Electrophporese والخطوات التجريبية المتبعة هي كالاتي:

نضع في حوضي الجهاز ماء مقطر و نصلهما بطرفي شريط من ورقة الأسيتات (او شريط ورقة الترشيح) ونتركها حتى تتبلل بمحتوى الحوضين نضع في منتصف الورقة قطرة من الحمض الاميني (الألانين Ala) ثم نغير درجة حموضة الوسط PH= 2

نوصل بعد ذلك محلول الحوضين بمسريين (إلكترودين) أحدهما متصل بالقطب الموجب و الثاني بالقطب السالب لمولد كهربائي

في الأخير نمرر التيار الكهربائي وبعد مدة زمنية نكشف على الجهة التي أنتقل إليها الحمض الأميني وذلك بإضافة كاشف النهيدرين الذي يلون الاحماض الامينية بلون الوردي والنتيجة المتحصل عليها ممثلة في الوثيقة المقابلة.

نكرر خطوات التجربة السابقة عند PH =6 ثم عند PH =12 والنتائج المتحصل عليها ممثلة في نفس الوثيقة:



الوثيقة (5)

الأسئلة:

س: حلل النتائج المتحصل عليها(سؤال شفوي)

س1: فسر هذه النتائج مدعما إجابتك بالصيغة الكيميائية للحمض الاميني في كل حالة.

س2: ماذا تمثل PH= 6 ؟

س3: ماذا يقصد بنقطة التعادل الكهربائي (PHi) ؟

س4: استخرج قاعدة تسمح بتحديد شحنة الحمض الأميني بمقارنة قيمة PH الوسط مع نقطة التعادل الكهربائي (PHi) ؟ ماذا تستنتج؟

الإجابة:

ج: التحليل: (إجابة شفوية)

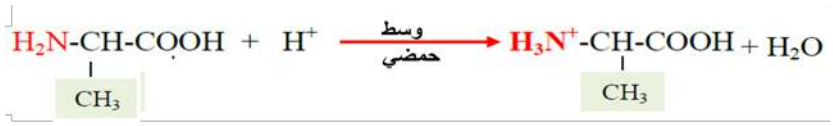
في PH = 2 نلاحظ انتقال الحمض الاميني Ala إلى القطب السالب.

في PH = 12 نلاحظ انتقال الحمض الاميني Ala إلى القطب الموجب .

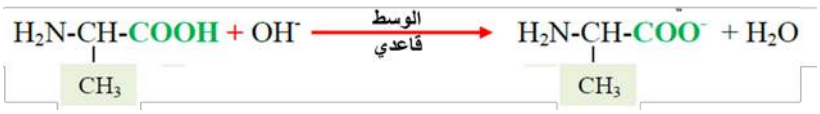
في PH = 6 نلاحظ عدم انتقال الحمض الاميني Ala إلى أي القطب.

ج1: التفسير:

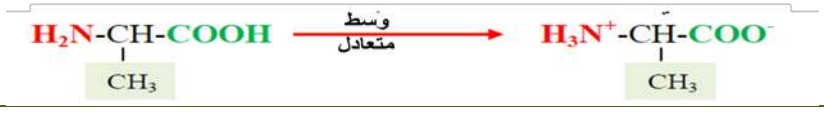
في PH = 2 نفسر انتقال الحمض الاميني Ala إلى القطب السالب بتأين (تشرد) المجموعة الامينية (NH3+) لان الوسط حمضي (غني بالبروتونات H+) حيث أصبح الحمض الاميني يحمل شحنة كهربائية موجبة (أحادي القطب) لأنه تصرف كقاعدة واكتسب بروتونا وفق المعادلة التالية:



في PH =12 نفسر انتقال الحمض الاميني Ala إلى القطب الموجب بتأين المجموعة الكربوكسيلية(COO-) لان الوسط قاعدي(غني OH-) حيث أصبح الحمض الاميني يحمل شحنة كهربائية سالبة (أحادي القطب) لأنه تصرف كحمض فحرر بروتونا وفق المعادلة التالية:



في PH = 6 نفسر عدم انتقال الحمض الاميني Ala إلى أي القطب بتأين المجموعتين الوظيفيتين حيث تحمل الوظيفة الكربوكسيلية شحنة كهربائية سالبة (COO-) والوظيفة الامينية شحنة كهربائية موجبة (NH3+) وهذا يعني ان مجموع الشحنات الكهربائية للحمض الاميني تساوي الصفر أي أنها متعادلة كهربائيا (في هذه الحالة يكون PH للوسط = PHi للحمض الاميني (PH isoélectrique)) لذلك يسلك الحمض الاميني سلوك ايون ثنائي القطب:



ج3: تمثل نقطة تعادل كهربائي للحمض الاميني Ala يرمز لها بالـ Phi=6 (PH isoélectrique)

ج4: نقطة التعادل الكهربائي (PHi) هي قيمة إلى PH التي عندها تتماثل عدد الوظائف الامينية المتأينة مع عدد الوظائف الحمضية المتاينة ومجموع شحنتهما يكون صفر .

ج5: القاعدة :

PH < Phi شحنة الحمض الاميني تكون موجبة (+) . أي تأين المجموعة الأمينية ($NH3^+$)

PH > Phi شحنة الحمض الاميني تكون سالبة (-) أي تأين المجموعة الكربوكسيلية (COO^-)

PH = Phi شحنة الحمض الاميني تكون معدومة.أي تساوي الشحنات(0)

النتيجة :

شحنة الحمض الأميني تتغير بتغير درجة PH الوسط.

- تسلك الأحماض الأمينية سلوك القواعد (تكتسب بروتونات H^+) في الوسط الحمضي وسلوك الأحماض (تحرر بروتونات H^+) في الوسط القاعدي لذلك تسمى بمركبات أمفوتيرية أو حمقلية (خاصية الاحماض الامينية).

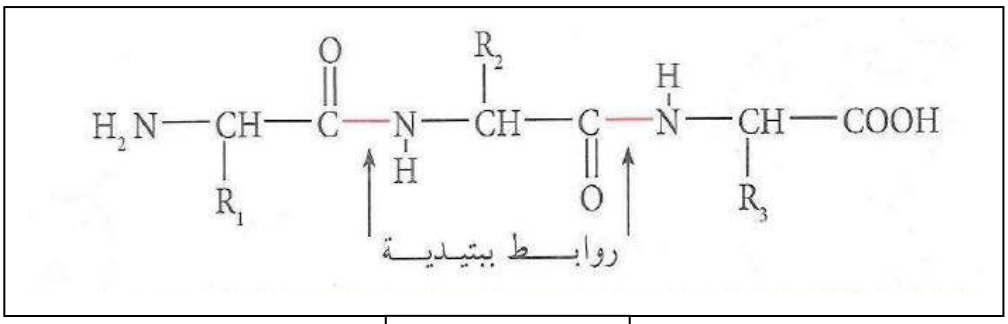
ملاحظة:

تعتمد الخصائص الأمفوتيرية للببتيدات والبروتينات على نوع الجذور الحمضية والقاعدية التي تكسب البروتين شحنات موجبة أو سالبة إضافية.

5.4. تشكل الرابطة الببتيدية:

دراسة الوثيقة (2) ص49:

تمثل الوثيقة التالية سلسلة ببتيدية مكونة من إتحاد 3 أحماض أمينية مرتبطة بروابط ببتيدية (ثلاثي ببتيد):



الوثيقة (6)

الأسئلة:

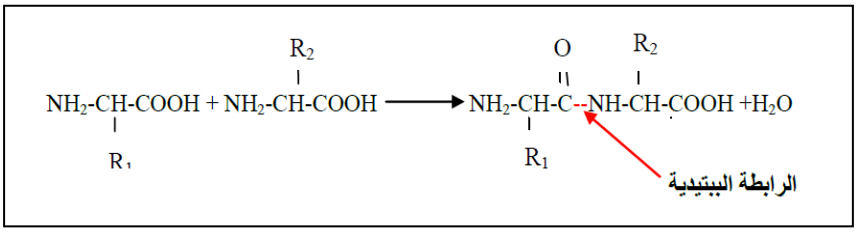
س1: وضح كيف تتشكل الرابطة الببتيدية بين حمضين أمينيين متتاليين استنادا للوثيقة.

س2: شكل رباعي ببتيد انطلاقا من الببتيد الثلاثي الموضح في الوثيقة؟

س3: ما هو عدد الوظائف الكربوكسيلية و الأمينية الحرة في ثلاثي و رباعي الببتيد، و هل يتأثر عدد هذه الوظائف بطول السلسلة الببتيدية؟

الإجابة:

ج1: الرابطة الببتيدية تتشكل من : اتحاد مجموعة الكربوكسيل للحمض الأميني الأول مع مجموعة الأمين للحمض الأميني الثاني مع خروج جزيئة ماء (H_2O).

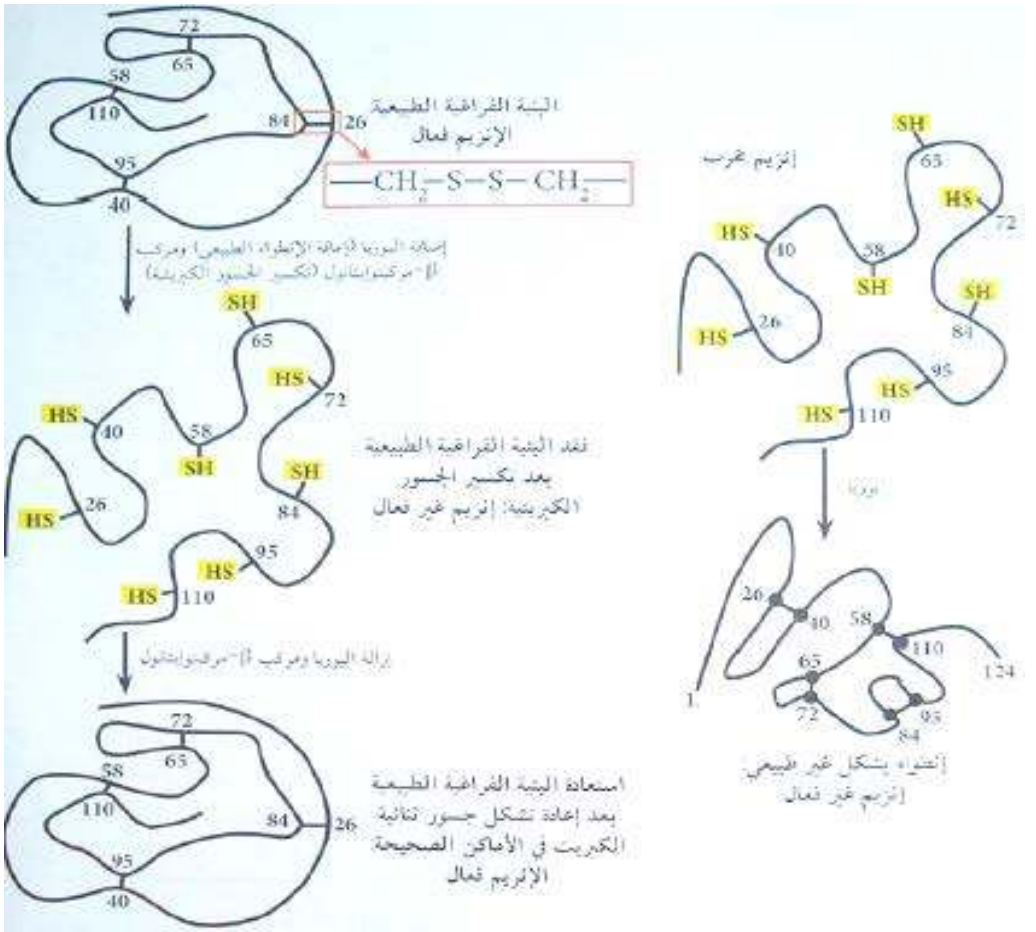


ج3: نجد في كل من رباعي الببتيد و ثلاثي الببتيد: وظيفة كربوكسيلية واحدة حرة في آخر متعدد الببتيد ووظيفية أمينية واحدة حرة في بدايته.

- هذا العدد لا يتأثر بطول السلسلة الببتيدية أي بعدد الأحماض الأمينية إذا تم إهمال الجذور الحامضية و القاعدية.

6.4. تجربة Anfinsen :

دراسة الوثيقة (3) ص 50 :



الوثيقة (7)

الأسئلة:

س1: فسر هذه النتائج التجريبية ؟

س2: من خلال نتائج التجربة استنتج دور تتابع ونوع الأحماض الأمينية في تحديد البنية الفراغية ووظيفة البروتين ،علل إجابتك

الإجابة:

ج1: التفسير :

– التجربة الأولى : تؤدي معاملة إنزيم الريبونيوكلياز بمركب β مركبتوإيثانول إلى تكسير الجسور الكبريتية الأربعة التي تحتويها سلسلته البروتينية وبالتالي تخريب بنيته الفراغية كما أن معاملة الإنزيم بمركب اليوريا تحول دون استعادته لانطوائه الطبيعي فيصبح البروتين غير وظيفي (غير فعال).

– التجربة الثانية : يؤدي إزالة مركب β مركبتوإيثانول ومركب اليوريا إلى عودة تشكل الجسور الكبريتية في مواضعها الصحيحة ومنه استعادة الإنزيم بنيته الفراغية وبالتالي استعادة تخصصه الوظيفي.

– التجربة الثالثة : معاملة الإنزيم المخرب (أي الفاقد لبنيته الفراغية) بمركب اليوريا يؤدي إلى تشكل جسور كبريتية في غير مواضعها الصحيحة مما يؤدي إلى انطواء السلسلة البروتينية بشكل غير طبيعي وبالتالي تغير بنيته الفراغية فيصبح البروتين غير وظيفي (غير فعال).

ج2: النتيجة :

يؤدي تواجد أحماض أمينية من نوع محدد في مواضع وأماكن محددة من السلسلة الببتيدية إلى تشكيل روابط كيميائية تحدد البنية الفراغية للبروتين وتعمل على ثباتها(استقرارها) من جهة كما تحدد وظيفة البروتين من جهة أخرى ومنه فالمحافظة على البنية الفراغية للبروتين تؤدي إلى المحافظة على وظيفة البروتين.

التعليل :

حيث أن انكسار هذه الروابط بواسطة مركب كيميائي (كاليوريا مثلا) أفقد البروتين بنيته الطبيعية وكذلك أفقد البروتين وظيفته (الإنزيمية).

5– الخلاصة

إن البنية الفراغية للبروتين ضرورية كي يصبح البروتين وظيفيا أي أن اكتساب بنية فراغية محددة دون غيرها من البنيات هي التي تسمح للبروتين بأداء وظيفته

– إن عدد ، نوع وترتيب الأحماض الأمينية الداخلة في تركيب البروتين هي التي تعطي للبروتين بنيته الفراغية ومنه أداء وظيفته.

– تتوقف البنية الفراغية وبالتالي التخصص الوظيفي على نوع الروابط الكيميائية التي تنشأ بين الأحماض الأمينية المحددة حسب المعلومات الوراثية و كذلك خصائصها.

يمكن دراسة البنية الفراغية للبروتينات بمختلف مستوياتها و كذلك الوحدات البنائية لها و خصائصها باستخدام مجموعة من البرامج أبرزها الراستوب.

6- تقويم : حوليات الأستاذ بوالريش أحمد للوحدة الثانية .	