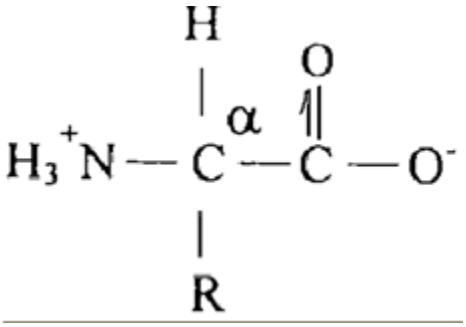
وكذلك (Haemoerythrins) ، والهيموواريثرين(Haemocyanins) والهيموسيانين ويشمل هذا (Cytochrome) المتواجد في العضلات والسايتوكروم (Myoglobins) الميوكلوبين الصنف من البروتينات بعض الموجودة في الطحالب السمراء والحمراء، لقد تم فصل العديد من الكروموبروتينات بشكل بلوري، وهي عالية الذوبان في الماء والمحاليل الملحية المخففة، وتكون غير ذائبة في المحاليل الملحية المركزة.

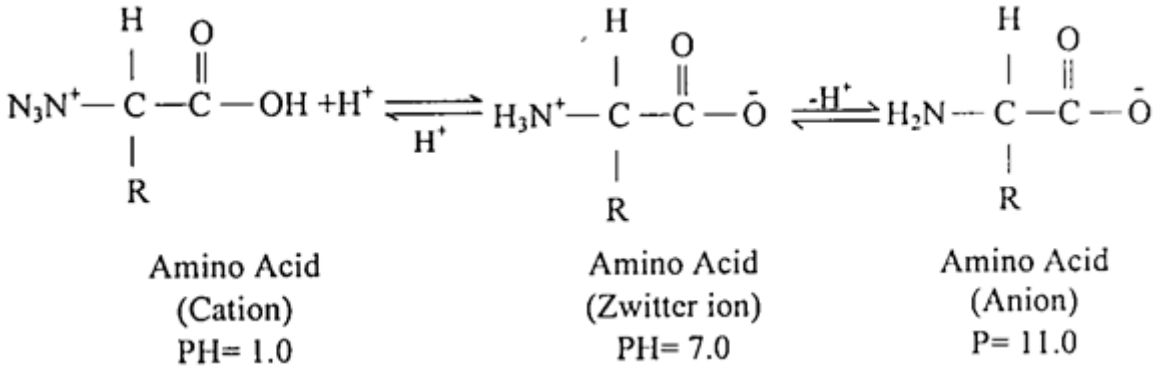
Amino Acids الأحماض الامينية

كما أسلفنا فإن الأحماض الامينية تعتبر الوحدات البنائية الاساسية، التي تشكل التراكيب الكيميائية المختلفة للجزيئات البروتينية. الأحماض الامينية مركبات عضوية بسيطة تتألف من مجموعة الامين ومجموعة الكاربوكسيل وذرة تسمى بذرة الكربون ألفا (a). وقد سميت هذه الأنواع من المركبات العضوية نسبة الى ذرة الكربون هذه بالأحماض الامينية – ألفا (a – Amino Acids). وغالبا ما تسمى مجموعة (R) في هذه الاحماض بالسلسلة الجانبية للحامض الاميني، واعتمادا على ما تتخذه هذه المجموعة (R) من تراكيب كيميائية مختلفة، اختلفت على ضوء ذلك الاحماض الامينية عن بعضها البعض. وفي ادناه الصيغة الكيميائية العامة للأحماض الامينية :



تشكل الأحماض الامينية في المحاليل المتعادلة مركبات ثنائية القطب تسمى – زويتر أيون (Zwitter Ions) بدلاً من وجودها على هيئة جزيئات غير متأينة، ففي الشكل ثنائي القطب للأحماض الامينية تفقد مجموعة الكربوكسيل بروتوناً لصالح المجموعة الأمينية التي تتحول نتيجة لذلك الى ايون موجب ومجموعة الكربوكسيل الى ايون سالب، وكما هو موضح في التركيب العام للأحماض الامينية في أعلاه. كما ان الحالة الايونية للأحماض الأمينية تختلف تبعاً لاختلاف درجة حموضة المحيط الذي يتواجد فيه الحامض الاميني. ففي المحلول الحامضي (PH = 1.0) تكون المجموعة الكربوكيسلية غير متأينة،

بينما تتأين المجموعة الأمينية، اما في المحيط القاعدي (PH = 11.0)فتتأين المجموعة الكربوكيسلية وتبقى مجموعة الأمين في الحالة غير المتأينة، وكما هو موضح في التراكيب التالية :



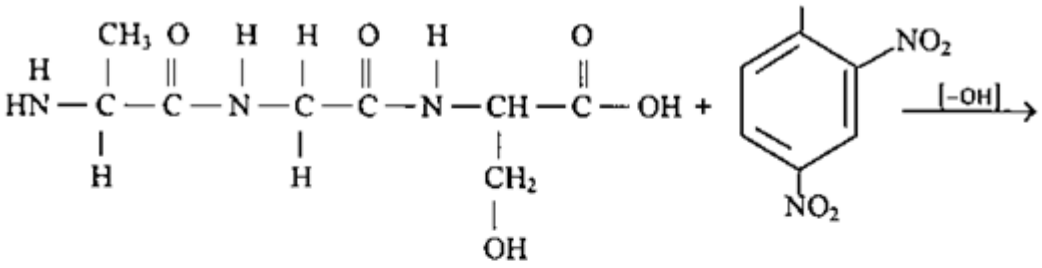
Amino Acid
(Cation)
PH= 1.0

Amino Acid
(Zwitter ion)
PH= 7.0

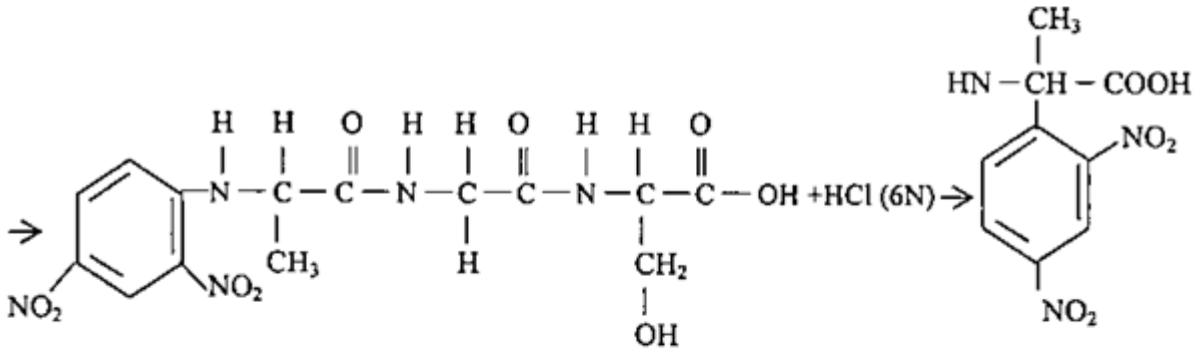
Amino Acid
(Anion)
P= 11.0

تعيين الطرف الأميني للبروتين (N–terminal amino acid)

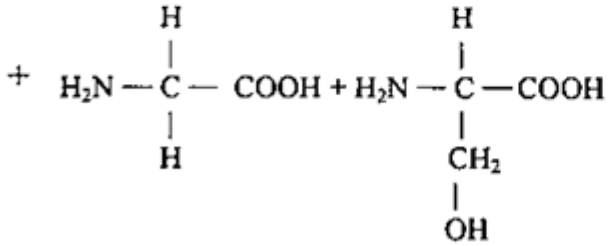
من الطرق المعتمدة في تحديد الحامض الاميني الذي يحتل الموقع الاميني، طريقة سانجر والمتضمن استخدام المركب العضوي : 1– فلورو، 4،2 – ثنائي نيترو بنزين Fluoro –1)، 2، –4 dinitrobenzene)في محيط قاعدي ضعيف ، فعند استخدام ببتيد ثلاثي نحصل على النتائج التالية :



Alanyl- glycyl-serine **1- Fluaro, 2,4- dinitrobenzene**



DNP – alanine



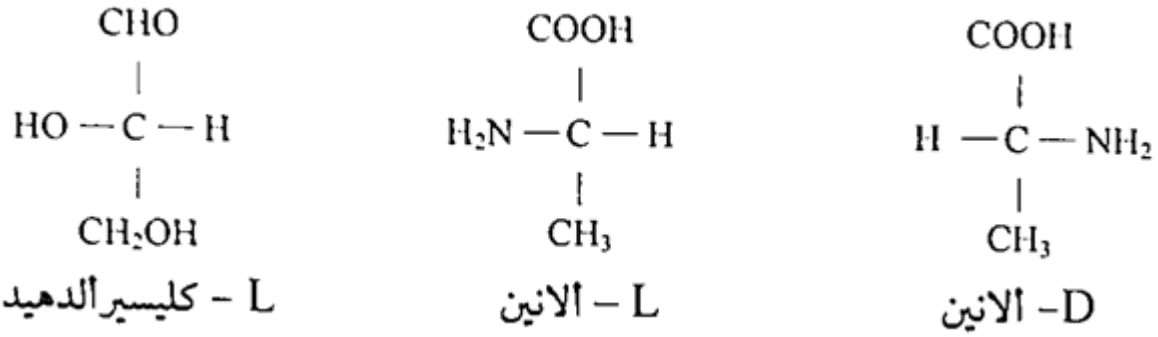
Glycine **Serine**

بعد معاملة ناتج التفاعل مع حامض الهيدروكلوريك (6NHCl) تكسر الروابط بين الاحماض الامينية في السلسلة الببتيدية، عدا الرابطة التي تربط بين 1- فلورو، 2،4 ثنائي نيترو بنزين والحامض الأول الذي يمثل الموقع الطرفي من الجانب الاميني وهو في هذه الحالة حامض ألآلانين (DNP- alanine)، وكما هو موضح في المعادلات الكيميائية في أعلاه. كما يمكن استخدام أنزيمات الببتايديز الخارجية(exopeptidase) للكشف عن الحامض الاميني الذي يحتل الموقع الاميني (N- terminal amino acid)، بدلا من العوامل الكيميائية، ويتلخص عمل الأنزيم بمهاجمة الرابطة الببتيدية التي تربط

بين الحامض الأميني الذي يحتل الموقع الأميني والحامض الاميني الثاني في السلسلة الببتيدية، محرراً الحامض الأميني الطرفي، ويعاود الأنزيم مهاجمة الببتيد الجديد محرراً الحامض الاميني الطرفي وهكذا تستمر العملية لغاية الحامض الاميني الخامس عشر في السلسلة الببتيدية، ويكون عمل هذا الأنزيم مشابه لتفاعل أدمان.

طبيعة الأحماض الامينية :

ان انتظام المجاميع الأربعة في الاحماض الامينية حول ذرة الكربون (ألفا) تكسب الحامض الأميني نشاطاً ضوئياً، فجميع الأحماض الامينية العشرون عدا حامض الكلايسين (Gly) تعطي انداداً بصرية بسبب امتلاكها ذرة كربون غير متناسقة (كيرالية) لذلك فان هذه الاحماض توجد في الطبيعة على شكلين، الشكل الأول يسمى L– أيزومير (L – isomer) والثاني يسمى – D – أيزومير (D– isomer).

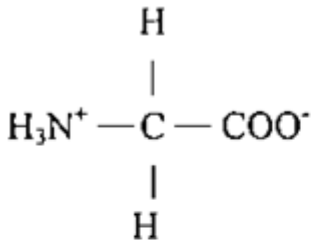


وتتكون عادة كل البروتينات في جسم الإنسان من الاحماض الامينية شكل (L). ان العشرين حامض أميني الداخلة في تركيب البروتينات تمتلك سلاسلا جانبية مختلفة في الشكل والحجم والشحنة والتركيب الكيميائي. ان البروتينات في جميع الاجناس من البكتريا حتى الإنسان تتألف من نفس مجموعة العشرون حامض أميني.

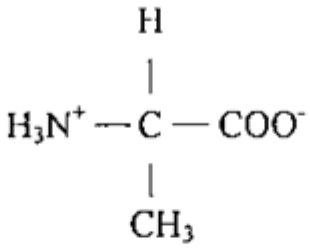
ان الاساسيات الأبجدية للجزيئات البروتينية يرجع عمرها الى ما لا يقل عن بليون سنة. وهذا الطيف من التنوع في الوظائف التي تؤديها الجزيئات البروتينية ناتج عن الاختلاف والتنوع في استثمار العشرين نوعاً من الاحماض الامينية في تشكيل الجزيئات البروتينية.

وسوف نلقي نظرة موجزة عن هذه الاحماض الامينية من حيث الطبيعة الكيميائية والمجاميع الجانبية وبيان مدى تأثيرها على الصفات الكيميائية والفيزيائية لهذه الاحماض والتي تعتبر الوحدات الأساسية في تشكيل كافة الجزيئات البروتينية المعروفة :

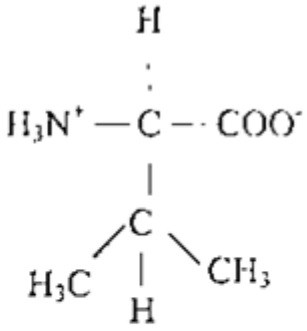
1. ان أبسط أنواع هذه الاحماض هو حامض الكلايسين والذي له ذرة هيدروجين تمثل السلسلة الجانبية، ثم يليه الآلانين وله مجموعة مثيل تمثل السلسلة الجانبية. وتوجد سلسلة جانبية هيدروكاربونية أكبر حجماً مكونة من ثلاثة أو أربعة ذرات من الكربون. ففي أحماض الفالين (Val)، وحامض الليوسين (Leu)، وحامض الأيسوليوسين (Ile)، تكون السلاسل الأليفاتية الكبيرة نوعاً ما نابذة (كارهة) للماء، بمعنى أنها تحبذ التجمع فيما بينها مبتعدة عن جزيئات الماء في المحيط. وان التركيب الثلاثي للبروتينات الذائبة في الماء يصبح مستقرا باقتراب السلاسل الجانبية الكارهة للماء من بعضها لتحاشي الالتصاق بالماء.



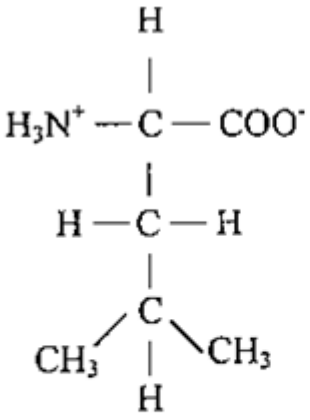
Glycine
(Gly, G)



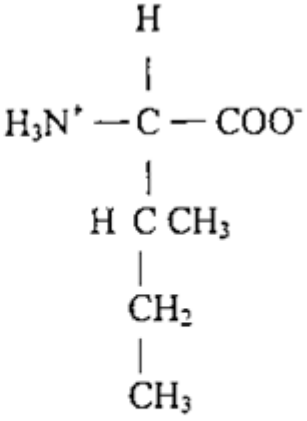
Alanine
(Ala, A)



Valine
(Val, V)



Leucine
(Leu, L)

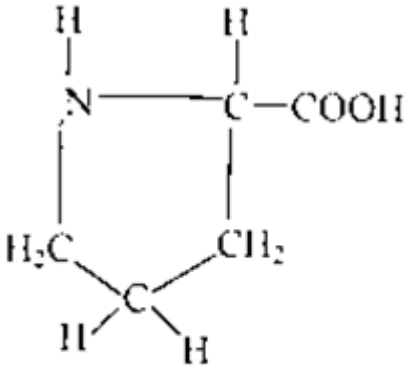


Isoleucine
(Ile, I)

ان اختلاف السلاسل الجانبية الهيدروكاربونية في الجسم والشكل يمكنها من التراص معاً لتكوين مركبات محبوكة التركيب يتخللها قليل من المساحات البينية الصغيرة.

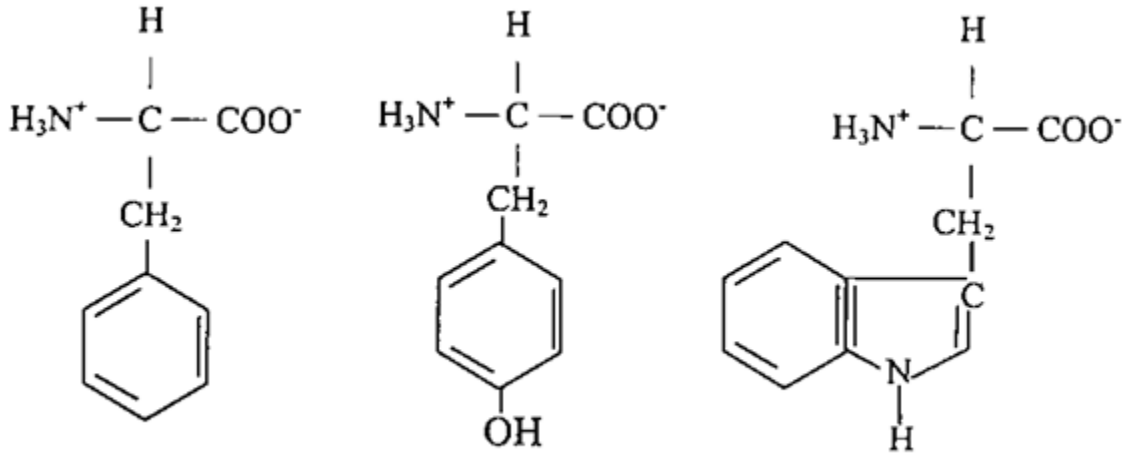
ان حامض البرولين (Pro P)، هو الآخر يحتوي على سلاسل جانبية اليفانية ولكنها تختلف عن باقي أعضاء المجموعة العشرين في كون سلسلته الجانبية مرتبطة بكل من ذرة النتروجين للمجموعة الأمينية وذرة الكربون (ألفا)، والمركب الحلقي الناتج يؤثر في الشكل البنائي الهندسي للجزيئات البروتينية. وغالبا ما نرى البرولين موجودا عند الالتواء في الجزيئات البروتينية المطوية وهو غير كاره للماء، ويلاحظ كذلك

ان البرولين (Proline) يحتوي على مجموعة أمينية ثنائية الارتباط وليست أولية الارتباط، مما يجعله حامضا أمينياً من نوع(Imino Acid).



Proline

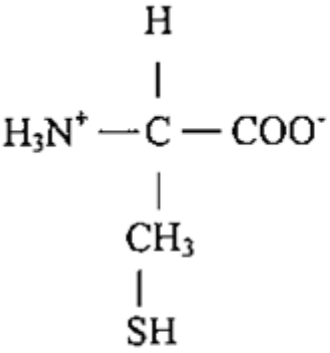
1. هنالك ثلاثة أحماض أمينية لها سلاسل جانبية أروماتية، وهي جزء من المجموعة الأساسية، فحامض الفنيل ألانين (Phenyl alanine) يحتوي على حلقة بنزين (فنيل) متصلة بمجموعة ميثيلين $-CH_2-$) (وحامض التريتوفان (Tryptophan) يحتوي على حلقة أندول متصلة بمجموعة ميثيلين، وهذه السلسلة الجانبية تحتوي على ذرة نتروجين بالإضافة الى ذرات الكربون والهيدروجيني. ان الفنيل ألانين والتربتوفان شديدا لنفور من الماء. اما الحامض الثالث وهو التايروسين (Tyrosine) فيحتوي على مجموعة هيدروكسيل والتي تجعل التايروسين أقل نفوراً من الماء بالمقارنة مع الحامضين السابقين.



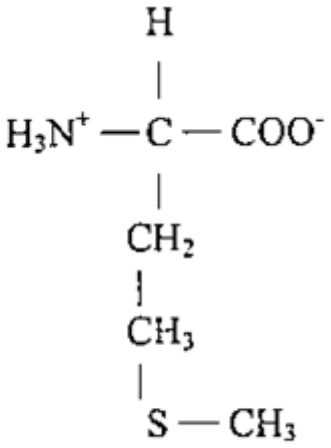
Phenyl alanine (Phe, F) Tyrosine (Tyr, T) Tryptophan (Trp, w)

ان الاحماض الامينية التي تم التطرق إليها حتى الان تحتوي على الحلقة الأروماتية مثل الفنيل آلانين والتربتوفان والتايروسين التي لها القدرة على سحب الإلكترون (باي –Pi – electron) العديمة التوضع يجعلها قادرة على التفاعل مع النظم – باي (Pi – System) الأخرى وتستطيع نقل الإلكترونات.

1. كما ان هنالك احماض المينية تمتلك سلاسلها الجانبية على ذرة الكبريت (Sulphur) وهما حامض السستين (Cysteine) الحاوي على ذرة الكبريت في رابطة أيثرية كبريتيدية (–S–CH3) وكلتا السلسلتين الجانبيتين المحتويتين على الكبريت نافرة من الماء (كارهة له) ومجموعة السلفاهيدريل في السستين نشطة جداً.

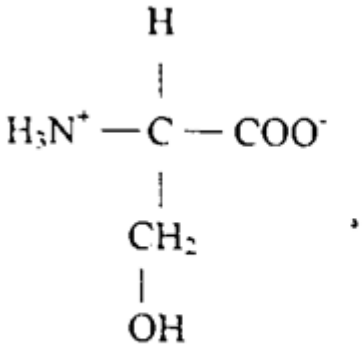


Cysteine (Cys., C)

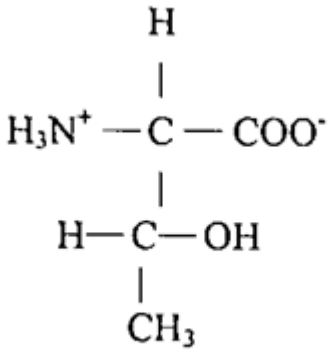


Methionine (Met., M)

1. كما يوجد لدينا حامضان أمينيان يحتويان على مجموعة هيدروكسيل ألفاتية، وهما السيرين (Serine) والثريونين (Threonine). ان هذين الحامضين يمكن اعتبارهما الشكل الهيدروكسيلي للألانين والفالين على التوالي، وان وجود هذه المجموعة تجعلها أكثر تقلباً للماء واكثر نشاطا من الألانين والفالين. لحامض الثريونين مركزين لعدم التناظر (Asymmetry) وهو بذلك يشبه حامض الأيسوليوسين.



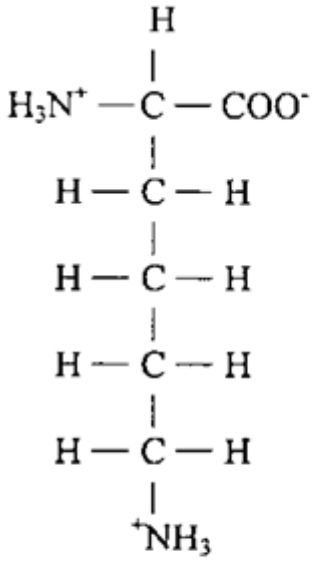
Serine (Ser, S)



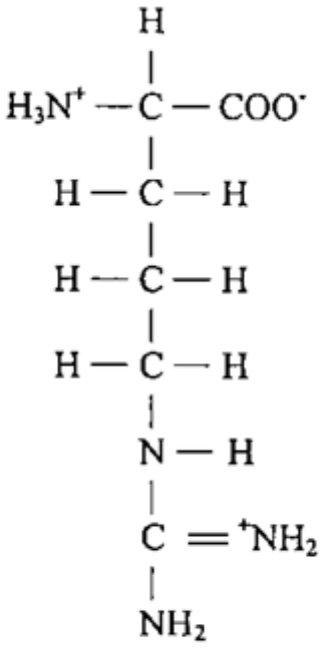
Threonine (Thr, T)

نعاود مرة اخرى جولتنا في الاحماض الامينية ونتكلم عن :

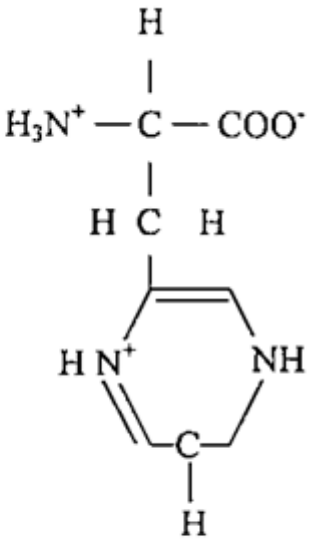
1. الأحماض الامينية ذات المجاميع الجانبية الشديدة القطبية : لهذه الاحماض الامينية ميلا شديدا نحو الماء، فحامض اللايسين(Lysine)، وحامض الأرجنين (Arginine) يحملان شحنات موجبة عند الدرجة المتعادلة، كما ان حامض الهستيدين يمكن ان يكون غير مشحون او يحمل شحنة موجبة تبعاً للبيئة التي تحيط به. وكما هو معروف فإن الهستيدين يوجد في مواقع النشاط في المركبات الأنزيمية، حيث ان حلقة الأميازول لها القدرة على التنقل بين الحالة المتعادلة او الموجبة لتساعد على تكوين الروابط او تكسيرها.



Lysine
(Lys, K)



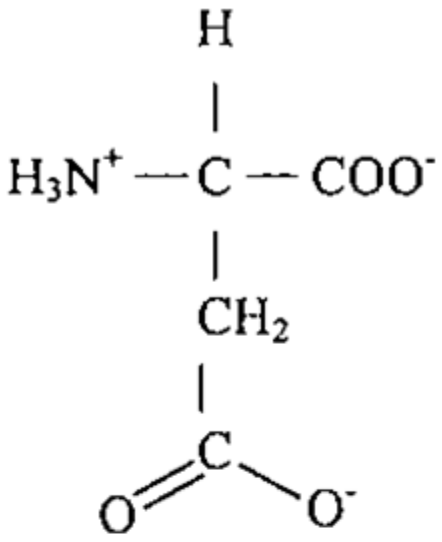
Arginine
(Arg, R)



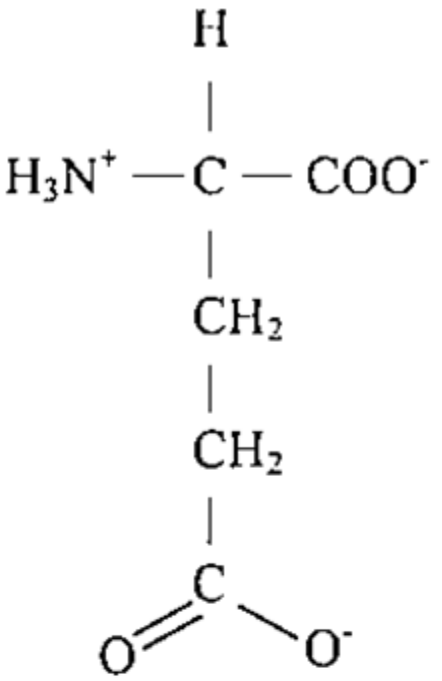
Histidine
(His, H)

1. ان حامضي الأسبارتيك (Aspartic Acid) وحامض الكلوتاميك (Glutamic Acid) يعتبران من الاحماض الامينية الحامضية لامتلاكها على مجموعة جانبية حامضية، وغالبا ما يطلق اسبرتات وكلوتامات، للتأكيد على ان السلسلة الجانبية تحمل شحنة سالبة عند الأس الهيدروجيني الفسيولوجي

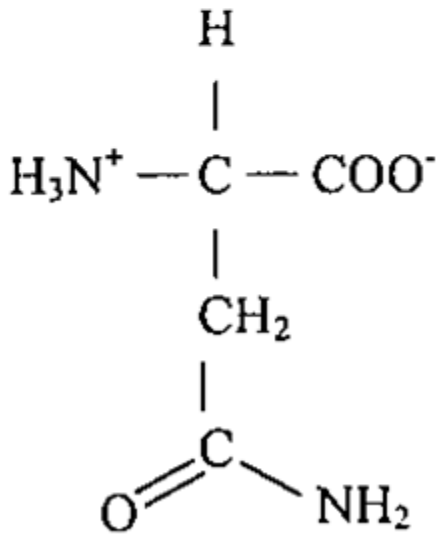
السالب. ان لهذين الحامضين مشتقة عديمة الشحنة تتمثل في الكلوتامين والأسباراجين اللذين يحتويان على مجموعة أميدية طرفية حلت محل مجموعة الكربوكسيل.



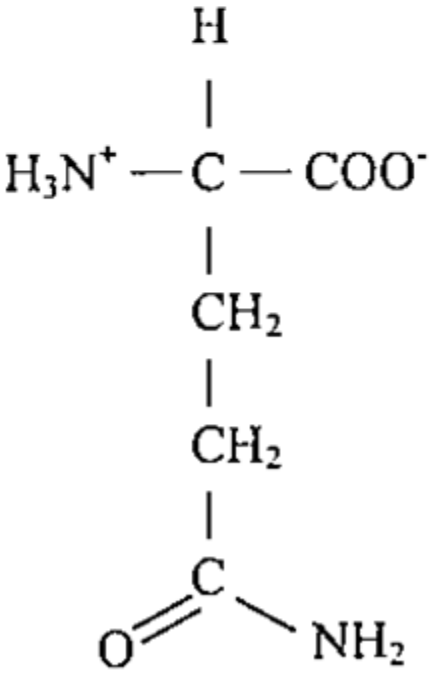
Asparagine
(Asp, N)



Glutamine
(Glu, E)

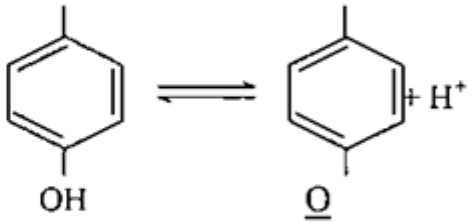
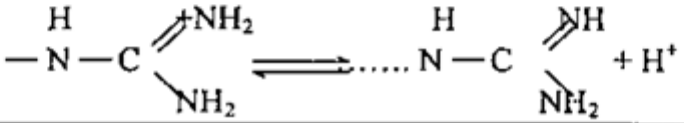


Asparagine



Glutamine

مما سبق نلاحظ ان سبعة أحماض من العشرين حامض أميني لها سلاسل جانبية قابلة للتأين وقد تم توضيح ذلك في قيم التوازن، Pk (ثابت التأين) للسلاسل الجانبية للأرجنين، واللايسين، والهستدين، والإسبارتيك، والكلوتاميك والستين والتايروسين في البروتينات في الجدول التالي :

ت	المجاميع (groups)	Acid ⇌ Base + H^+	Typical P^K
1-	Terminal carboxyl	$-C(=O)-OH \rightleftharpoons -C(=O)-O^- + H^+$	3.1
	a- Asp	$-C(=O)-OH \rightleftharpoons -C(=O)-O^- + H^+$	4.4
	b- Glu	$-CH_2C(=O)-OH \rightleftharpoons -C(=O)-O^- + H^+$	4.4
	C - His	$-CH_2-CH=CH \rightleftharpoons -CH_2\,CH=CH + H+$	6.5
2-	Terminal amino	$-{}^+NH_3 \rightleftharpoons NH_2 + H^+$	8.5
	a- Cysteine	$-SH \rightleftharpoons \bar{S} + H^+$	
	b-Tyrosine		10.0
	C- Lysine	$\ldots\ldots {}^+NH_3 \rightleftharpoons \ldots\ldots NH_2 + H^+$	10.0
	d- Arginine		12.0

الخواص الفيزيائية للاحماض الامينية:

تذوب الاحماض الامينية بصورة عامة في الماء، ولكنها لا تذوب او قليلة الذوبان في الكحول. ولا تذوب في المذيبات غير القطبية مثل الإيثر والكلوروفورم مع وجود بعض الاستثناءات. حامض التايروسين قليل الذوبان في الماء البارد غير انه يذوب في الماء الحار، بينما لا يذوب حامض السيستين الا بصعوبة في الماء البارد او الحار. اما البرولين والهيدروكسي برولين فإنهما يذوبان في الكحول والإيثر.

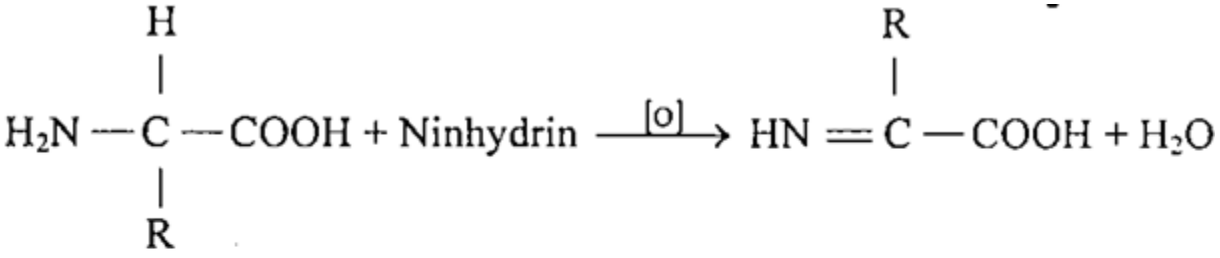
تتميز بعض الأحماض الامينية بطعمها الحلو مثل احماض الكلايسين والآلانين، والفالين، والبرولين، والهيدروكسي برولين، والسيرين، اما الأيزوليوسين والأرجنين فإنهما يتميزان بطعمها المر. ومن الاستخدامات التجارية لهذه الاحماض، استعمال أملاح الصوديوم لحامض الكلوتاميك لإضفاء نكهة خاصة لبعض مكونات الطعام.

ان الاحماض الامينية تتصرف كمركبات شبيهة بالأملاح فهي مركبات صلبة ذات درجات انصهار عالية لدرجة انها تحترق عموماً قبل تحولها الى الحالة السائلة، كما انها تمتلك القابلية للاتحاد بالاحماض والقواعد، بسبب مجاميع الأمين والكربوكسيل، لذلك فهي تعتبر من المركبات الأمفوتيرية (Amphoteric) وتعتبر محاليلها المائية، محالياً منظمة.

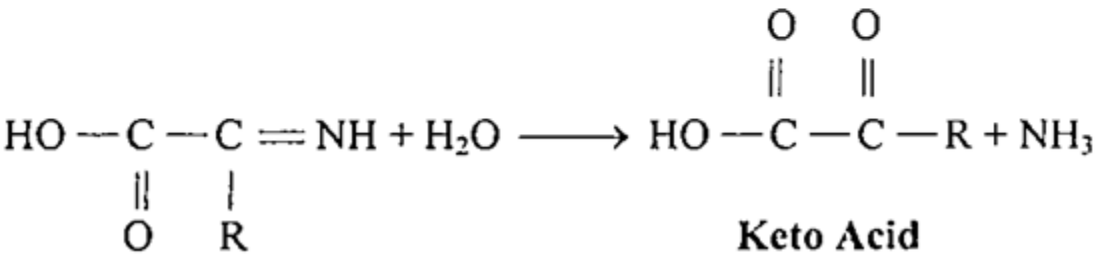
الخواص الكيميائية للاحماض الامينية

التفاعل مع النهيدرين : Ningydrin Reaction

يعد هذا التفاعل من التفاعلات المهمة المستخدمة في الكشف عن المجموعة الامينية في الاحماض الامينية، والببتيدات، والبروتينات. ويتلخص هذا التفاعل بإزالة مجموعة الأمين من الحامض الاميني جراء عملية الأكسدة الناتجة من تأثير مركب النهيدرين :

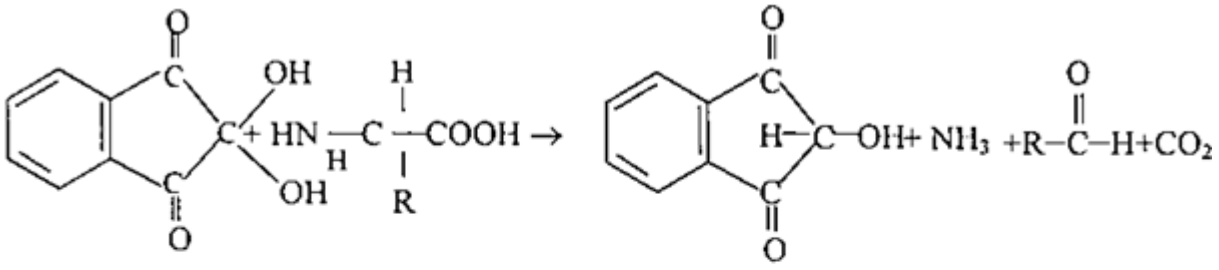


Amind Acid **Imino Acid**



Keto Acid

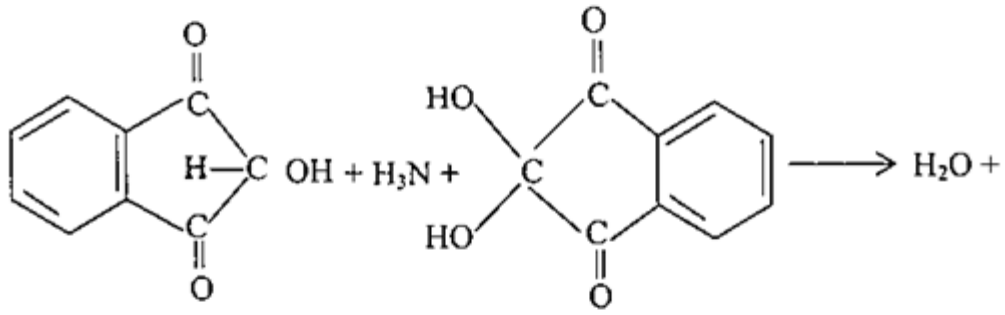
فعند تسخين الحامض الاميني مع محلول النهيدرين، يفقد الحامض الاميني مجموعته الامينية، كما هو موضح في التفاعل السابق، مع ظهور لون أزرق يمكن اعتماده كدليل على وجود الاحماض الامينية، او الببتيدات البسيطة والمتعددة، ويمكن تلخيص هذا التفاعل بالمعادلات الكيميائية التالية :

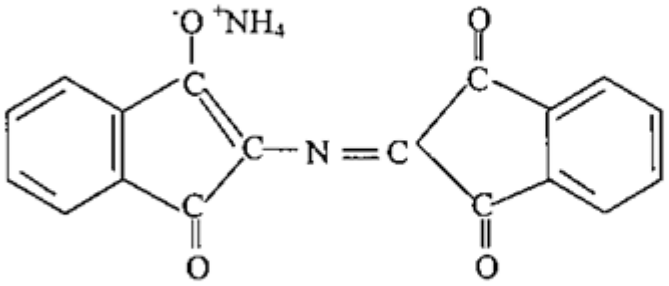


Ninhydrin
محلول النتهيدرين

Amino Acid

Hydrindantin





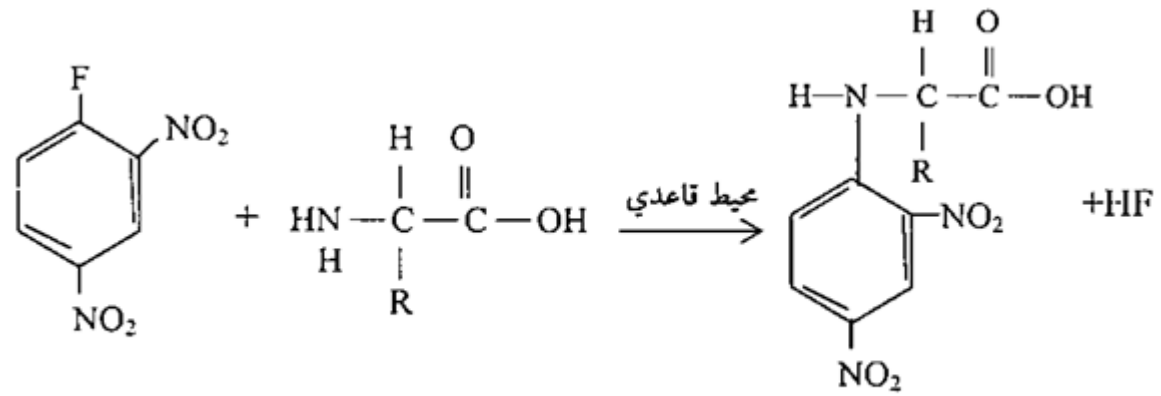
Ruheman's Purple
(لون أزرق أو بنفسجي)

لخصائص الكيمائية للاحماض الامينية

التفاعل مع محلول سانجر Sanger s Reaction

وهو من التفاعلات المهمة للأحماض الامينية والببتيدات، والبروتينات، وهو يتلخص بتفاعل المجموعة الأمينية الحرة، مع المركب العضوي : 1- فلورو، 2،4 ثنائي نايتروبنزين (1-Fluro، 2، 4

dinitrobenzene) والذي يسمى كذلك محلول سانجر، في المحيط القاعدي الضعيف مثل محلول البيكروبونات لتكوين مشتقة ثنائي نيتروفنيل الحامض الاميني (Dinitrophenyl amino) وتتميز هذه المشتقات كونها مركبات صلبة ذات لون أصفر لماع، تذوب في الإيثر.



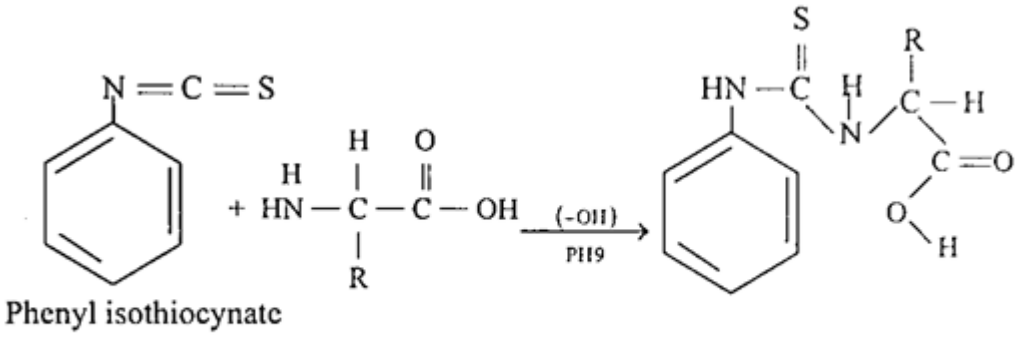
1- Fluoro, 2,4-dinitrobenzene | Amino Acid | Dinitrophenyl amino acid or DNP- amino acid

تمتاز هذه المركبات بأن الرابطة المتكونة بين حلقة البنزين ومجموعة الأمين في الحامض الأميني تقاوم الأحماض المعدنية مثل حامض الهيدروكلوريك (6-عيارية) وهي أكثر استقراراً من الأواصر الببتيدية، فعند معاملة هذه المشتقات مع حامض الهيدروكلوريك (6-عيارية) تتكسر كافة الأواصر الببتيدية في المركب البروتيني عدا الرابطة بين الحامض الأميني وحلقة البنزين محررة الاحماض الامينية المكونة للجزيئة البروتينية عدا الحامض الاميني المتحد مع محلول سانجر فيكون على هيئة مشتقة (DNP-aminino محررة الاحماض الامينية المكونة للجزيئة البروتينية عدا الحامض الاميني المتحد مع محلول سانجر فيكون على هيئة مشتقة acid) لذلك يعتبر هذا التفاعل من التفاعلات المهمة في تحديد نوع الحامض الاميني الذي يحتل الموقع الطرفي الاميني في الجزيئة البروتينية والببتيدات (N-terminal amino acids).

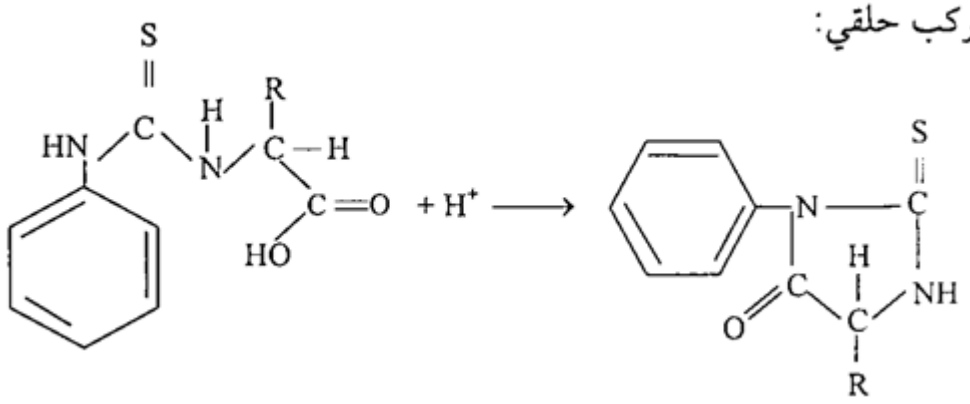
لخصائص الكيميائية للاحماض الامينية

التفاعل مع محلول أدمان : Edmans Reaction

يتلخص هذا التفاعل باتحاد مجموعة الأمين الحرة في الاحماض الامينية، او الببتيدات، او البروتينات مع المركب العضوي الفنيل أيزوثيوسيانات (Phenyl isothioeynate) أو ما يسمى بمحلول أدمان (Edman reagent)، تحت ظروف قاعدية (PH 8-9).



وعند معاملة المشتقة الناتجة مع الحامض يفقد هذا المركب جزيئة ماء ليتحول إلى مركب حلقي:



أن أهمية هذا التفاعل تكمن في امكانية استخدامه في تحديد نوع الحامض الاميني الذي يمثل الطرف الاميني في الببتيد البسيط او الببتيد المتعدد. ان تكون المشتقة الحلقية للحامض الاميني الطرفي والذي ينتج بإضافة حامض ضعيف مثل حامض البيرفورميك (Performic acid)، لا يؤثر هذا الحامض على الروابط الببتيدية.

التي تربط بين الاحماض الامينية التي تلي الحامض الاميني الطرفي في الببتيد البسيط او الببتيد المتعدد، او في الجزيئة البروتينية.