" سباق التسلُّح ("מירוץ החימוש ") - تطوير "جيل جديد" من المُضادّات الحيويّة (الأنتبيوتيكا).

المَهمّة IV: تمعَّنوا في المبنى الفراغي للبروتين IPNS بمُساعدة الأداة Jmol (صفحة 1 من 7)

هدف المَهمّة :

ركَّزت المَهمّة السابقة على بحث الموقع الفعّال للإنزيم IPNS، وعرفنا خلالها أنَّ الموقع الفعّال للإنزيم يتركَّب من ثلاثة أحماض أمينيّة: اثنان من الهستيدين (المُشار إليه بالحرف H) وحامض الجلوتاميك (المُشار إليه بالحرف D). رأينا أيضًا أنَّ هذه الأحماض موجودة في مناطق مختلفة من تسلسل البروتين في المواضع 214، 216 و270.

```
MASTLKANVPKIDVSPLFGDNMEEKMKVARAIDAASRDTGFFYAVNHGVDVKRLSNKTREFHFSITDEEKWD
LAIRAYNKEHQDQIRAGYYLSIPGKKAVESFCYLNPNFKPDHPLIQSKTPTHEVNVWPDEKKHPGFREFAEQ
YYWDVFGLSSALLRGYALALGKEEDFFSRHFKKDDALSSVVLIRYPPFLDPIPPAAIKTAEDGTILSFEWHED
VSLITVLYQSNVQNLQVETPQGYLDIEANDTGYLINCGSYMAHITNNYYPAPIHRVKWVNEERQSLPFFVNL
GFNDTVQLWDPSSPDGKTDKEPVSYGQYLQNGLVS
```

صورة 1: تسلسل الإنزيم IPNS، فيه لوّنت بالأخضر رموز الأحماض الأمينيّة التي تكوّن الموقع الفعّال في المواضع 214، 216 و270.

تطرح هذه المُعطيات سؤاليّ بحث مُثيريْن: كيف يُمكن أنْ تكوّن الأحماض الأمينيّة البعيدة عن بعضها البعض موقعًا فعّالًا واحدًا؟ كيف ترتبط مادة الأساس (السُبسترات) סובסטרט بالموقع الفعّال؟

1. كيف يُمكن أنْ يكون الموقع الفعّال للإنزيم IPNS مُكوَّنًا من الحامض الأمينيّ هستيدين في الموضع 270، الذي يبعد تقريبًا 60 حامض أمينيّ عن المواضع 214 و216، الّتي تتواجد فيها بقيّة الأحماض الأمينيّة التي تكوِّن الموقع الفعّال؟ هل ينبع من هذا أنَّ الموقع الفعّال يمتدُّ على طول منطقة كبيرة في الإنزيم؟

للمعلم: اكتشفنا في الفعاليّة السابقة ما هي الأحماض الأمينيّة التي تُركِّب الموقع الفعّال لإنزيم IPNS. السؤال الذي يطرح نفسه هو كيف تعمل الأحماض الأمينيّة التي تبعد عن بعضها (في التسلسل الأوليّ للبروتين) كموقع فعّالٍ واحدٍ؟ هل البعد بين المواضع التي تُكوِّن الموقع الفعّال يُشير إلى أنَّ الموقع الفعّال يمتدُّ على طول منطقةٍ واسعةٍ جدًّا في البروتين أو أنَّ هُناك تفسيرًا آخر لذلك؟ يتعلَّم الطلاب في هذه الفعاليّة كَيْفيّة النظر إلى المبنى الفراغي מבנה מרחבי للبروتين وكيفيّة تفسير هذا الأمر. خلال المَهمَّة سيتمعَّن الطلاب بشكل أساسيّ بالموقع الفعّال للبروتين وبارتباط السُبسترات به. تسلسل الأحماض الأمينيّة عبارة المبنى الأوليّ للبروتين، وهو يدلُّ على الترتيب المُتتالي للأحماض الأمينيّة المُرتبطة ببعضها ببرابط ببتيدي، ولكنَّه لا يدلُّ على المبنى الفراغي للبروتين. طيّ(קיפול) الأحماض الأمينيّة يكوِّن مباني ثانويّة: مبنى لولب ألفا ومُسطَّح صفائح بيتا، تربط بين هذه المباني مناطق تُسمّى التفاف (לולאות). تنتج المباني الثانويّة بفضل تكوُّن روابط هيدروجينيّة بين الأحماض الأمينيّة. تنطوي المباني الثانوية أيضًا وأيضًا لإنتاج مبنى أكثر تعقيدًا – المبنى الثلاثيّ للبروتين. ينتج الطَّي الإضافي بسبب تنوع التأثيرات المتبادلة بين الأحماض الأمينيّة كأربطة فاندر فالس والروابط الكبريتيّة، الروابط الأيونيّة والتأثيرات الهيدروفوبيّة. بالإمكان شرح المباني المُختلفة (أوليّ, ثانويّ وثُلاثيّ) بواسطة سلك معدنيّ. يكون السلك في البداية طويلًا ومُستقيمًا، هذا هو المبنى الأولي. بعدها نقوم بإنتاج المباني الثانويّة: نُنتج لَولبًا (بمُساعدة لفّ السلك حوْل جسم اسطوانيّ مثل قلم أو اسطوانة)، مُسطَّح صفائح بيتا (بواسطة طَيٍّ أو ثنيٍّ مُتكرِّرٍ)، وأخيرًا يُمكن أنْ نرى كيف بإمكان المناطق التي تصل بين المباني الثانويّة أنْ تنطوي لتُكوِّن المبنى الثُلاثي. بهذه الطريقة يُمكن أنْ نرى مناطق قريبةً من بعضها في المبنى الفراغي للبروتين مع أنَّها لم تكن قريبة أبدًا في التسلسل الأوليّ له.

مراحل المَهمّة

من أجل الإجابة عن هذه الأسئلة علينا أنْ نتذكَّر الفروقات بين المبنى الأوليّ، الثانويّ والثُلاثيّ للبروتين. ستُساعدنا هذه الفروقات على فهم مبنى الموقع الفعّال وكيف يقوم بربط مادة الأساس (السُبسترات). لهذا الهدف نقوم في هذه الفعاليّة بتنفيذ المراحل التالية:

1. ننظر إلى المبنى الفراغي لإنزيم IPNS، الذي يُعرف أيضًا بالمبنى ثلاثيّ الأبعاد (3D)، بواسطة استعمال أداة لعرض المباني ثلاثيّة الأبعاد للجُزيئات والمُسمّاة Jmol:

   أ. نُنفِّذ الخطوات الأوليّة في الأداة Jmol وننظر إلى مبنى البروتين من زوايا مُختلفة.

   ب. نعرض المباني الثانويّة الموجودة في الإنزيم.

2. نُميِّز الأحماض الأمينيّة التي تُركِّب الموقع الفعّال ونُؤشرها (نمنحها إشارة) في المجال ثلاثيّ الأبعاد (מרחב תלת-ממדי). في هذه الحالة بإمكاننا التعرُّف على المبنى الفراغي للموقع الفعّال.

3. ننظر إلى ارتباط مادة الأساس بالموقع الفعّال.

للمُعلّم: فيما يلي مراحل المَهمّة.

1. التعرّف على الأداة Jmol، طريقة استعمالها والتمعُّن في المبنى الفراغي للبروتين. يضمُّ هذا القسم أيضًا مراجعة للمواد التعليميّة عن مبنى البروتين، مع التركيز على الفروقات الموجودة بين المبنى الأوليّ والثانويّ. من المُفضَّل الشرح عن الرابط البيتيدي، الروابط الهيدروجينيّة وأربطة فاندر فالس بشكل مُفصَّل.

2. عرض الموقع الفعّال وحلّ القضيَّة المطروحة في هذا الفصل.

3. عرض مادة الأساس وأساس عمل الإنزيم IPNS.

" سباق التسلُّح ("מירוץ החימוש ") - تطوير "جيل جديد" من المُضادّات الحيويّة (الأنتبيوتيكا).

المَهمّة IV: تمعّنوا في المبنى الفراغي للبروتين IPNS بمساعدة الأداة Jmol (صفحة 2 من 7)

المبنى الفراغي للإنزيم IPNS

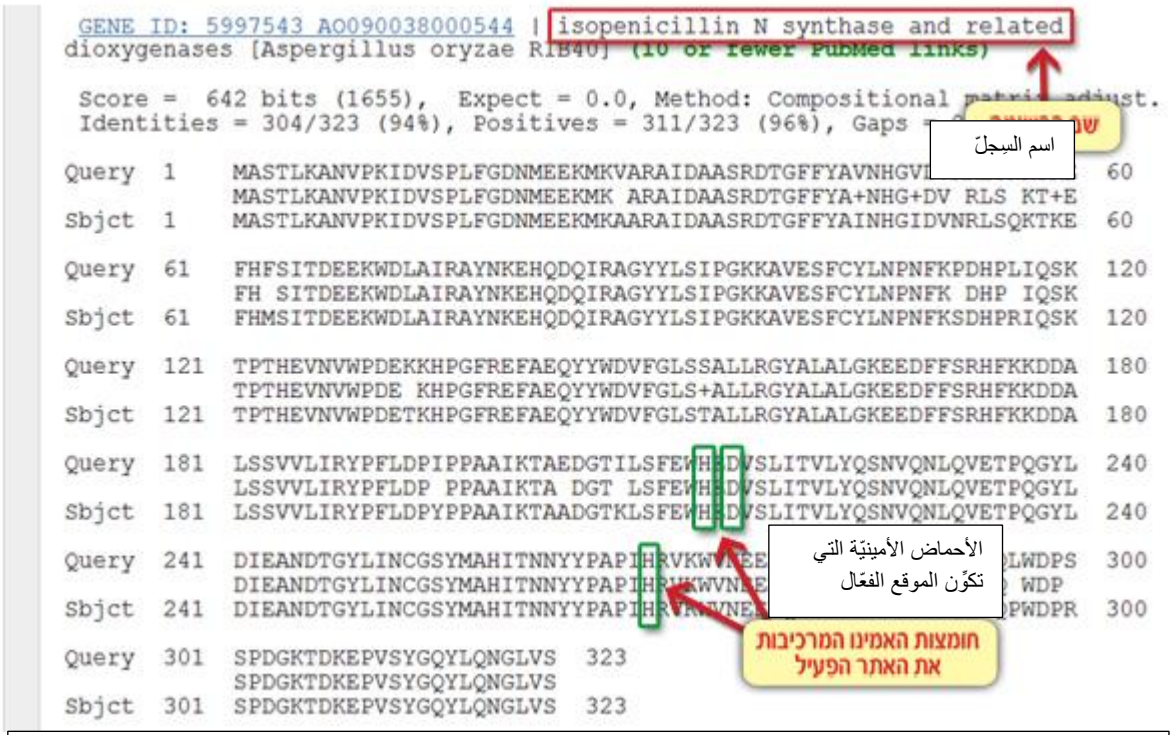
المبني الفراغيمבנה מרחבי للبروتين يتحدَّد بطريقة تُسمّى حيود الأشعة السينية (X-ray Difraction) (פיזור קרני רנטגן) أو بطريقة أخرى تُسمّى الرنين المغناطيسي النووي תהודה מגנטית גרעינית (NMR) Nuclear Magnetic Resonance. جميع مباني البروتينات التي حُدِّد مبناها حتى يومنا مُركَّزة (مُجمعة) في مُستودع معلومات يُعرف باسم RCSB Protein Data Bank أو باختصار PDB. تحديد المبنى الفراغي للبروتين هو مَهمّة مُعقَّدة جدًّا تحتاج إلى وقت طويل وموارد كبيرة، ولذلك مُستودع مبنى البروتينات أصغر بكثير بحجمه من مُستودعات التسلسلات التي تعرَّفنا عليها في المهمّات السابقة، معنى هذا أنَّ الباحثون قاموا بتحليل المبنى الفراغي لتسلسلات قليلة فقط من البروتينات. مثلًا عندما بحثنا في مُستودع PDB، دلّ البحث على أنَّ التسلسل الذي عزلناه من الفطر لم يُحدَّد مبناه الفراغي حتّى الآن. هل من المُمكن أنْ نتابع بحثنا؟

عرفنا من خلال المهمّات السابقة بوجود إنزيمات IPNS عديدة مصدرها من مخلوقات مختلفة. أدركنا هذه الحقيقة عندما نفّذنا البحث عن تسلسلات بروتينات مُشابهة لتسلسل البروتين الذي نبحثه بواسطة الأداة BLASTp، وهكذا أيضًا شخّصنا هويّة التسلسل. **مبدأ أساسي في البيوإنفورماتيكا هو أنّ البروتينات المُتشابهة جدًّا مع بعضها البعض في تسلسل الأحماض الأمينيّة تكون متشابهة مع بعضها في المبنى الفراغي أيضًا.**

2. كيف يُمكن أنْ تُساعدنا هذه المعلومات على الاستمرار في بحثنا؟

للمعلم: حتّى الآن لم تتمّ دراسة المبنى الفراغي لبروتين IPNS الذي عزلناه من الفطر. لذلك سنتمعَّن في المبنى الفراغي لبروتين IPNS من فطرٍ من صنف مُختلف، وهو البروتين الأكثر شبهًا بالتسلسل الذي بحوزتنا. لِكوْن الإنزيميْن مُتشابهيْن جدًّا في تسلسل الأحماض الأمينيّة، هناك احتمال كبير أنْ يكون المبنى الفراغي للإنزيميْن مُتشابه جدًّا أيضًا. لذلك بإمكاننا استخلاص الاستنتاجات بالنسبة للبروتين الموجود لدينا من خلال تحليل مبنى بروتين IPNS آخر. نوصي المعلّم بإجراء نقاش بالموضوع دون عرض الإجابة عن السؤال حيث يحصل عليها الطّلاب في الصفحة التالية.

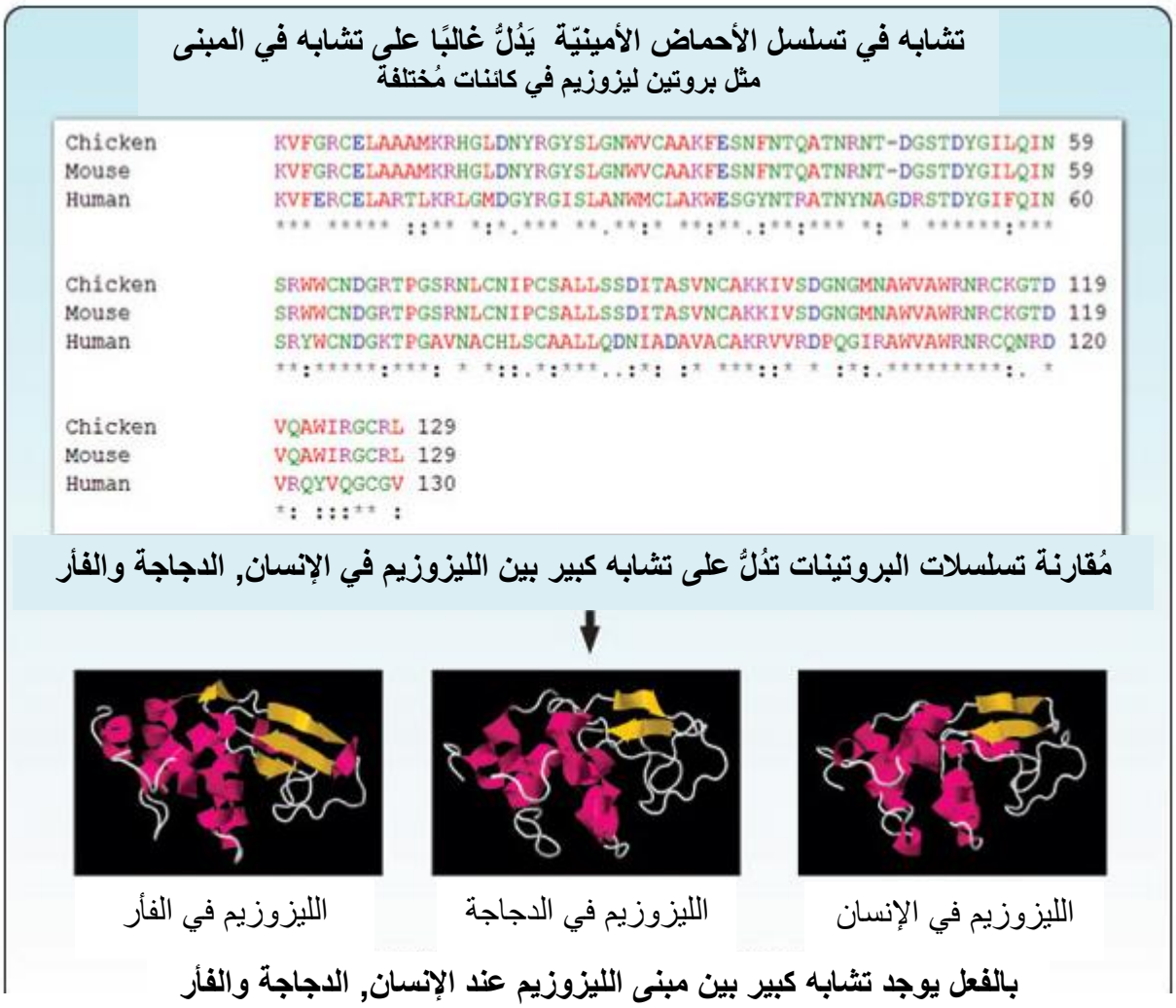
وجدنا في مهمّة سابقة بواسطة الأداة BLASTp البروتين الأكثر تشابهًا مع تسلسل البروتين الذي عزلناه من الفطر، وعرفنا أنّه إنزيم IPNS. فحصنا إذا كان الموقع الفعّال محفوظًا بتسلسل الإنزيميْن (الإنزيم الذي وُجد في نتائج البحث والإنزيم الذي عُزل من الفطر)، أي فحصنا إذا كانت الأحماض الأمينيّة التي تُركّب الموقع الفعّال مُتطابقة في البروتينيْن، ووجدنا أنْ الأمر كذلك (الشاشة 1).



الشاشة 1: الموقع الفعّال في التسلسل الذي عزلناه من الفطر (Query) والتسلسل الذي وُجد في مُستودع المعلومات (Sbjct).

البروتينان متشابهان جدًّا على طول كلِّ التسلسل، وخصوصًا في الأحماض الأمينيّة التي تكوِّن الموقع الفعّال. من المُعتاد نَسْب البروتينات إلى نفس عائلة البروتينات عندما تتشابه بشكل كبير في تسلسل الأحماض الأمينيّة التي تُركِّبها (أيْ عندما تكون بروتينات مُتماثلة (هومولوجية)).

بما أنَّ التشابه في تسلسل البروتين يدلُّ على التشابه في المبنى الفراغي فإنَّ البروتينات التي تنتمي إلى نفس العائلة لديها مبنى فراغي مُتشابه (رسم 2). وهكذا يمكن أنْ نتعلَّم عن مبنى البروتين الذي بحوزتنا من خلال مبنى بروتين آخر من نفس العائلة حُدِّد مبناه سابقًا.



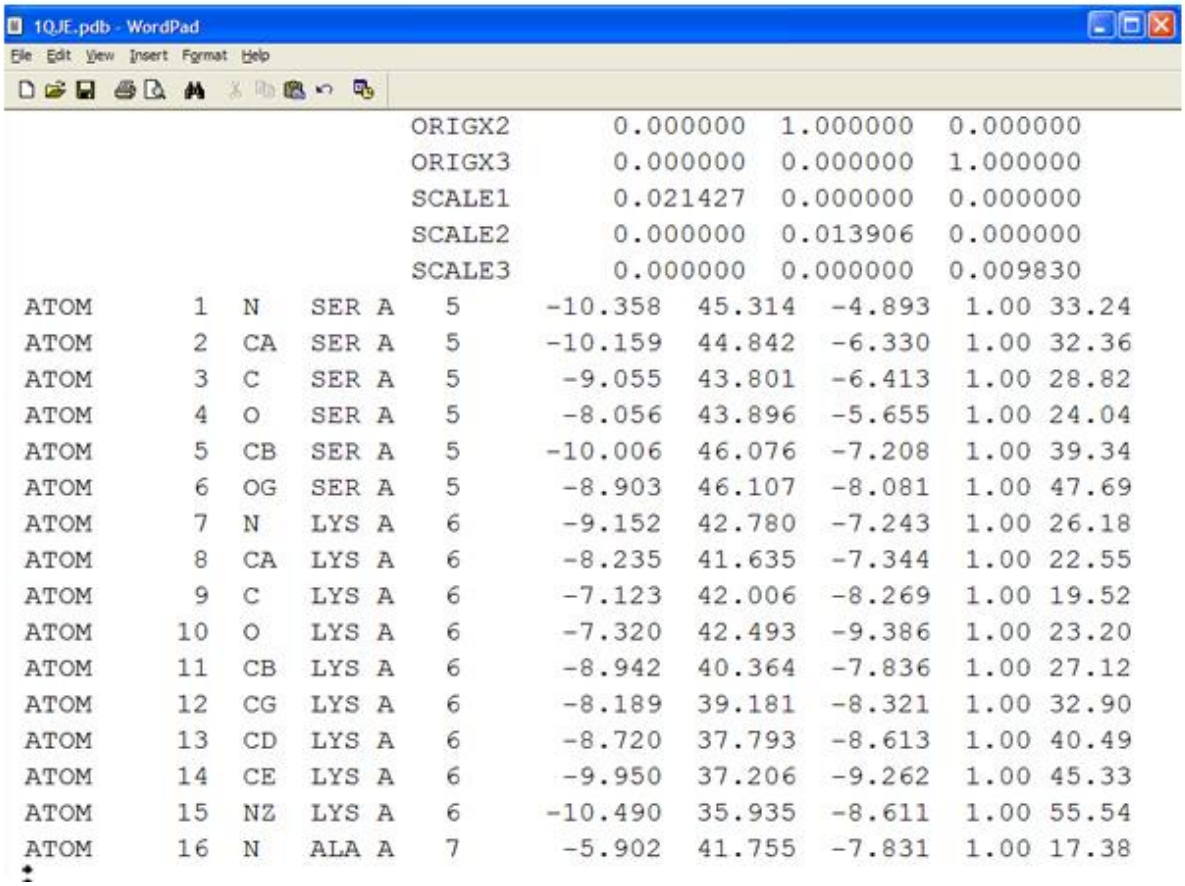
الرسم 2: بروتينات تنتمي إلى نفس العائلة هي في الغالب ذات تسلسل محفوظ ومبنى فراغي مُتشابه.

بالرغم من أنَّ المبنى الفراغي للإنزيم IPNS الذي عزلناه من الفطر لم يُحدَّد بعد، إلا أنّه تمّ تحديد المباني الفراغيّة لإنزيمات IPNS في أنواع أخرى من الفطريّات، كالمبنى الفراغي لإنزيم IPNS من الفطر من صنف Aspergillus Nidulans. بإمكاننا استنتاج المعلومات عن مبنى البروتين الذي بحوزتنا من خلال الإنزيم IPNS من الفطر Aspergillus Nidulans، لأنَّ البروتينيْن مُتشابهين جدًّا في تسلسل الأحماض الأمينيّة التي تكوِّنهما. لهذا الهدف نحتاج إلى الملف الذي يصف مبنى البروتين، كود التعرّف (**קוד זיהוי**) لهذا الملف في مُستودع المباني ثلاثيّة الأبعاد (PDB) هو **1QJE.**

المَهمّة IV: تمعّنوا في المبنى الفراغي للبروتين IPNS بمساعدة الأداة Jmol (صفحة 3 من 7)

الخطوات الأولى في Jmol

ستجدون على سطح المكتب مكتبة (ספרייה) تُسمّى "Jmol" وهي تحتوي على مكتبة أخرى تُسمّى PDB. يتواجد في هذه المكتبة ملف باسم 1QJE.pdb، ينتهي الملف بالرموز "pdb" التي تدلُّ على أنَّه ملف مبنى جُزيئة، يُمكن إيجاد ملفات من هذا النوع في مُستودع المعلومات RCSB-PDB . إنْ لمْ تجد الملف، قُم بتحميله من الرابط 1QJE.pdb واحفظه على سطح المكتب. اضغط على الملف وافتحه بواسطة البرنامج Wordpad (اضغط على الجهة اليُمنى للفأرة، اختر الإمكانيّة Open with واختر البرنامج Wordpad). إذا لم يكن البرنامج بحوزتك أو وواجهتك صعوبات، يُمكنك الاستعانة بالملف المرفق من النوع "txt" أو "pdf". أمعن النظر بالملف الذي فُتح أمامك وتقدَّم إلى فيه إلى أنْ تصل إلى الأسطر التي تبدأ بالكلمة ATOM (في الصفحة 8، المثال معروض في الشاشة 2). الأحرف والأرقام المعروضة أمامك تعرض مكان كلّ ذرّة אטום في المجال ثلاثيّ الأبعاد، هكذا يُمكننا إنتاج نموذج للمبنى الفراغيّ للبروتين.



الشاشة 2: ملف المبنى الفراغي يتكون من أرقام تُشير إلى مكان كل ذرّة في المجال ثلاثيّ الأبعاد.

كما نُلاحظ لا يُمكن أنْ نفهم المعلومات الموجودة في الملف بسهولة، فمن الصعب أنْ نفهم ونُحلّل المبنى الفراغي للبروتين من خلالها. كي نتمعّن في المبنى الفراغي للبروتين، علينا استعمال برنامج خاص بإمكانه تحليل المعطيات الموجودة في الملف وتحويل الأرقام والأحرف إلى شكل ثلاثي الأبعاد. برنامج Jmol هو أحد البرامج التي تستطيع تحليل هذه المعطيات وتقوم بعرض مبنى مُتوقّع للبروتين. تجد في الروابط التاليّة إرشادات لتثبيت (התקנה) برنامج Jmol على حاسوبك البيتي ، باللغة العبريّة העברית أو باللغة الانجليزيّة האנגלית.

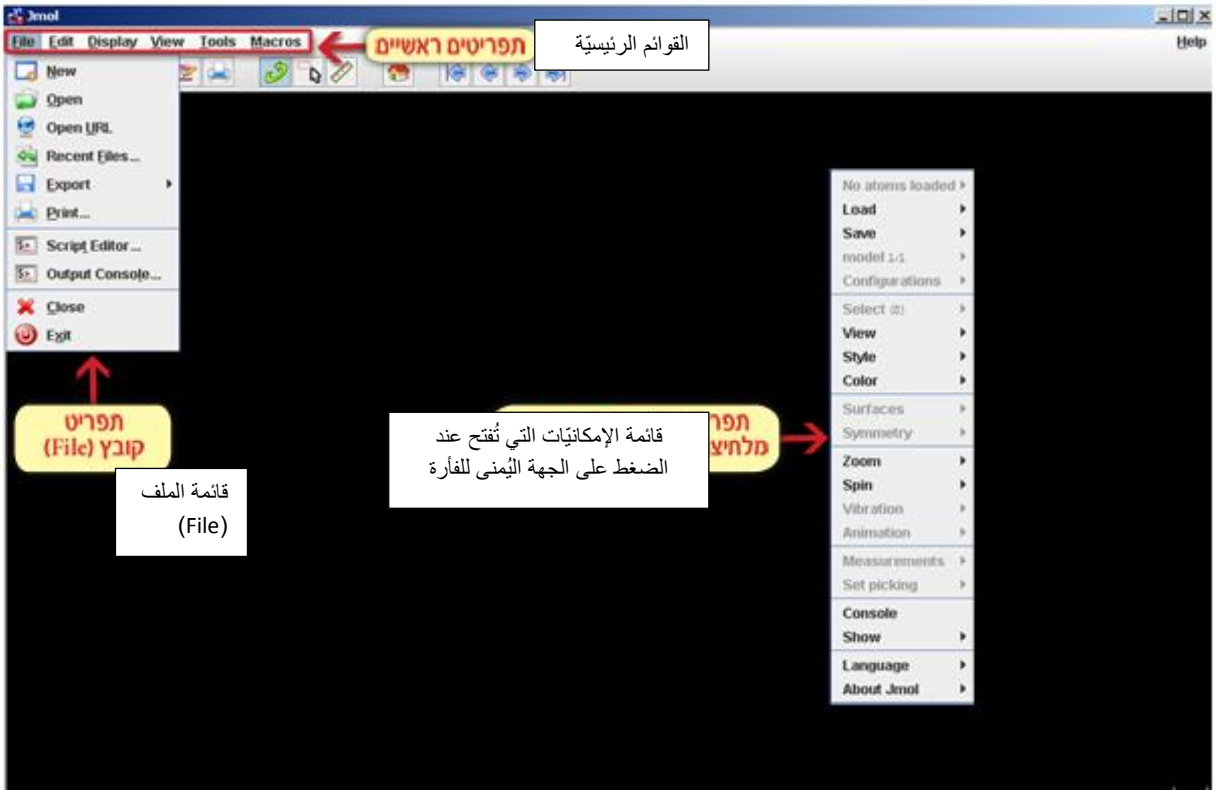
عُد إلى مكتبة Jmol وجِدْ الملف المُسمّى Jmol.jar، هذا الملف ذا رمز فنجان ؛ اضغط على هذا الملف، ستُفتح أمامك بيئة عمل البرنامج Jmol (يمكنك أيضًا الضغط على الملف Jmol.bat ذا الرمز).

من المُفضّل قبل مُتابعة المهمّة مُشاهدة الجولة الإرشاديّة للأداة Jmol التي تشرح مبادئ الاستعمال الأساسيّة للأداة.
בטרם נמשיך בפעילותנו, מומלץ לצפות בסיור המודרך של הכלי Jmol המסביר עקרונות שימוש בסיסיים בכלי.

ملاحظة: في هذه الفعاليّة نستعمل الكتابة من النوع "File ➔ Open ➔ 1QJE.pdb" من أجل وصف تسلسل أوامر علينا تنفيذها. ترتيب الأوامر من اليسار إلى اليمين، ومعناه " اختر من القائمة الإمكانيّة File، بعدها اختر الإمكانيّة Open، في النهاية اختر 1QJE.pdb".

عودوا إلى بيئة عمل البرنامج Jmol. اختاروا من القائمة الموجودة في أعلى بيئة العمل File ➔ Open ➔ 1QJE.pdb (اضغطوا أولًا على File، بعدها اضغطوا على Open، ابحثوا داخل النافذة عن الملف 1QJE.pdbواضغطوا عليه).

بالإضافة إلى الإمكانيّات الموجودة في الأعلى توجد قائمة إمكانيّات إضافيّة تُفتح بعد الضغط على الجهة اليُمنى للفأرة (الشاشة 3).



الشاشة 3: القوائم الرئيسيّة (في أعلى الجهة اليسرى) وقائمة الإمكانيّات الإضافيّة التي تُفتح بعد الضغط على الجهة اليُمنى للفأرة (في الجهة اليُمنى).

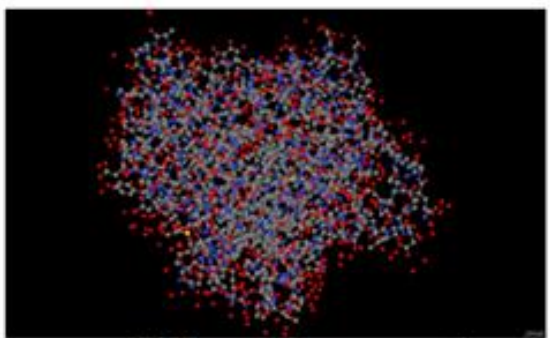
انتبه: يُمكن أنْ تختلف طريقة العرض التلقائية (תצוגת בררת המחדל) للأداة Jmol بحسب النُسخة المُثبتة في حاسوبكم اذا كانت طريقة عرض المبنى تختلف عن تلك المعروضة في الشاشة 4، اضغط على الجهة اليُمنى للفأرة، اختر من القائمة الأوامر التالية:
Style ➔ Scheme ➔ Ball and Stick.

للمعلّم: شديدي الملاحظة، سيُلاحظون وجود ذرّات بألوان إضافيّة. وهي عبارة عن ذرّات كبريت (S، ملوّنة بالأصفر) وذرّات حديد (Fe، ملوّنة بالبرتقالي).

النظر إلى البروتين بطرق عرض مُختلفة

طريقة عرض العيدان والكرات

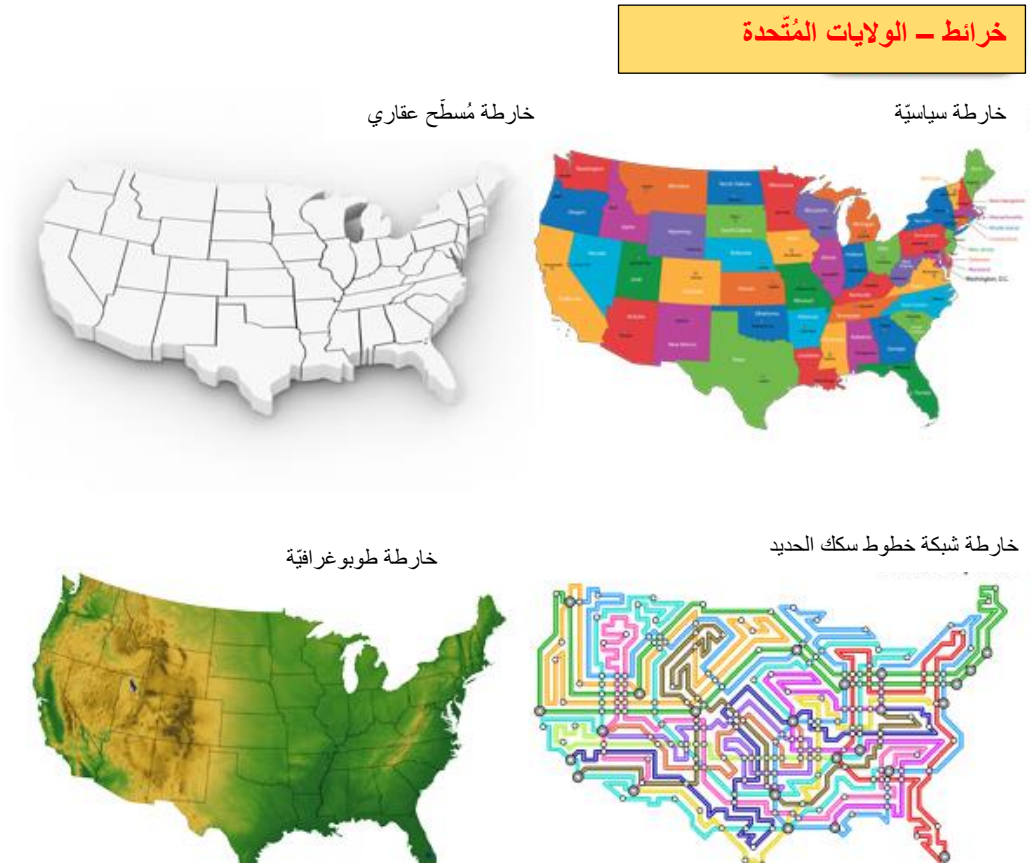
يُعرض أمامنا بروتين IPNS من الفطر Aspergillus Nidulans بطريقة عرض تُعرف باسم عرض العيدان والكرات (מוטות וכדורים- Balls and Sticks). تُعرض كل ذرّة على شكل كرة (כדור- Ball)، ويُعرض كلّ رابط كوفلنتي كخطٍ (קו- Stick). تُعبِّر الكرة الحمراء عن ذرَّة أكسجين، أما الكرة الزرقاء فتُعبِّر عن ذرَّة نيتروجين، بينما تعرض الكرة الرّماديّة ذرّة كربون. سُميّت الطريقة التي تشير إلى الذرّات بهذه الألوان باسم CPK على اسم مُبتكري الطريقة.



الشاشة 4 :مبنى البروتين IPNS بطريقة عرض العيدان والكرات (Balls and Sticks)

خلال المهمّة سنتمعَّن بأنواع مختلفة من طرق العرض حيث توضِّح كلُّ طريقة وتشدِّد على صفة مُختلفة في مبنى البروتين. فواحدة تعرض المبنى الثانوي للبروتين، وأُخرى تعرض الحجم الذرّي له وهكذا. يُمكن أنْ نعرض نموذج البروتين بطرق عرض مُختلفة، لكنْ علينا أنْ نتذكَّر أنَّ جُزيئة البروتين لا تظهر في الواقع كما تظهر في النموذج (الموديل). النموذج هو فقط وصف تخطيطيّ (תיאור סכמטי) يعرض مكان كلِّ ذرّة بالنسبة للذرّة المجاورة لها.

يُمكن فهم هذا المبدأ عندما ننظر إلى خرائط مختلفة لنفس المنطقة (رسم 3). خارطة واحدة تعرض حدود الدولة، أخرى تعرض تضاريسها، وثالثة تعرض شوارع المنطقة. لكنّ كلّ هذه الخرائط هي فقط نموذج للواقع، وهي توضّح وتشدّد صفة معيّنة في المنطقة. في الواقع عندما نتنزَّه في المنطقة نرى بيوت، أشجار، شوارع وتفاصيل أخرى لم تُعرض في أيٍ من الخرائط. هكذا هو الأمر أيضًا بالنسبة لنموذج البروتين، فكل طريقة عرض هي بمثابة خريطة توضّح وتشدّد صفة معينة في مبنى البروتين، ولكنّها لا تعرض مبنى البروتين كما هو في الحقيقة، بل هي نموذج فقط.



الرسم 3: الخرائط المختلفة للولايات المُتَّحدة، كلُّ خارطة توضّح صفة أو ميزة مختلفة.

تحريك النموذج باتجاهات مختلفة

من أجل بحث مبنى البروتين علينا أنْ نتمعَّن فيه من زوايا مُختلفة؛ علينا النظر إلى مناطق معيّنة في البروتين، تحديد نسبة تكبير نموذج البروتين (حسب الحاجة).

قُمْ بتحريك مبنى إنزيم IPNS حسب الإرشادات الموجودة في البنود 1-2 :

1. اضغط على الجهة اليُسرى للفأرة وحرِّكها إلى اليمين وإلى اليسار. عندها يستدير المبنى حول محوره العمودي. اضغط على الجهة اليُسرى للفأرة وحرِّك إلى الأعلى والأسفل ستُلاحظ دوران البروتين حوْل محوره الأفقي. بشكل مشابه يُمكنْ أنْ نُحرِّك أو نقوم بتدوير المبنى بزوايا مختلفة.
2. اضغط على عجل الفأرة وحرِّكها إلى الأعلى والأسفل – هذه الخطوة تقوم بتقريب البروتين وإبعاده (Zoom In/Zoom Out). يمكن استعمال قائمة الإمكانيّات حتى نُبعد أو نُقرِّب البروتين عن طريق الضغط على الجهة اليُمنى للفأرة واختيار Zoom ➔ 200% . نعيد عرض البروتين إلى الوضع الذي نستطيع فيه رؤية البروتين بأكمله.

3. من أجل التسهيل يمكن نقل المبنى من مكان الى آخر على الشاشة، بواسطة الضغط على الزر Alt ıCtrl وفي نفس الوقت على الجهة اليُسرى للفأرة ونقل البروتين.

تلخيص إمكانيّات تحريك البروتين

نوع حركة البروتين	الطريقة
دوران البروتين حول المحور Y	الضغط على الجهة اليُسرى للفأرة + التحريك إلى اليسار وإلى اليمين
دوران البروتين حول المحور X	الضغط على الجهة اليُسرى للفأرة + التحريك إلى الأعلى وإلى الأسفل
دوران البروتين حول المحور Z	الضغط على الزر Shift+ الضغط على الجهة اليُسرى للفأرة والتحريك إلى اليسار وإلى اليمين (التحريك إلى الأعلى والأسفل تؤدي إلى تقريب وإبعاد البروتين)
التقريب / الإبعاد (Zoom Out/Zoom In)	دحرجة عجل الفارة إلى الأعلى وإلى الأسفل zoom ← תפריט
نقل البروتين من مكان إلى آخر على الشاشة	الضغط على الزر Alt+ Ctrl الضغط على الجهة اليُسرى للفأرة ونقلها

" سباق التسلُّح "("מירוץ החימוש ") - تطوير "جيل جديد" من المُضادّات الحيويّة (الأنتبيوتيكا).

المَهمّة IV: تمعّنوا في المبنى الفراغي للبروتين IPNS بمساعدة الأداة Jmol (صفحة 4 من 7)

عرض المبنى الثانوي

بالرغم من أنَّ طريقة عرض العيدان والكرات تُمكّننا من رؤية كلّ ذرّة في البروتين وتُمكِّن من رؤية الروابط الكيميائيّة بين الذرّات أيضًا، إلا أنَّه من الصعب ملاحظة المباني الثانويّة الموجودة في البروتين من خلالها. المبنى الثانوي هو مبنى مميَّز يتكرَّر داخل البروتين: لولب ألفا סלילי אלפא الذي يظهر باللّون الورديّ، مسطَّح صفائح بيتا משטחי בטא يظهر باللّون الأصفر، التفافات وانحناءات (לולאות וסיבובים) تربط بينها وتظهر باللّون الأبيض. نعود إلى بيئة العمل Jmol ونغيّر طريقة عرض البروتين إلى طريقة عرض المبنى الثانوي. من أجل الوصول إلى قائمة الإمكانيّات الإضافيّة نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة، نختار الإمكانيّات Style ➔ Scheme ➔ Cartoon

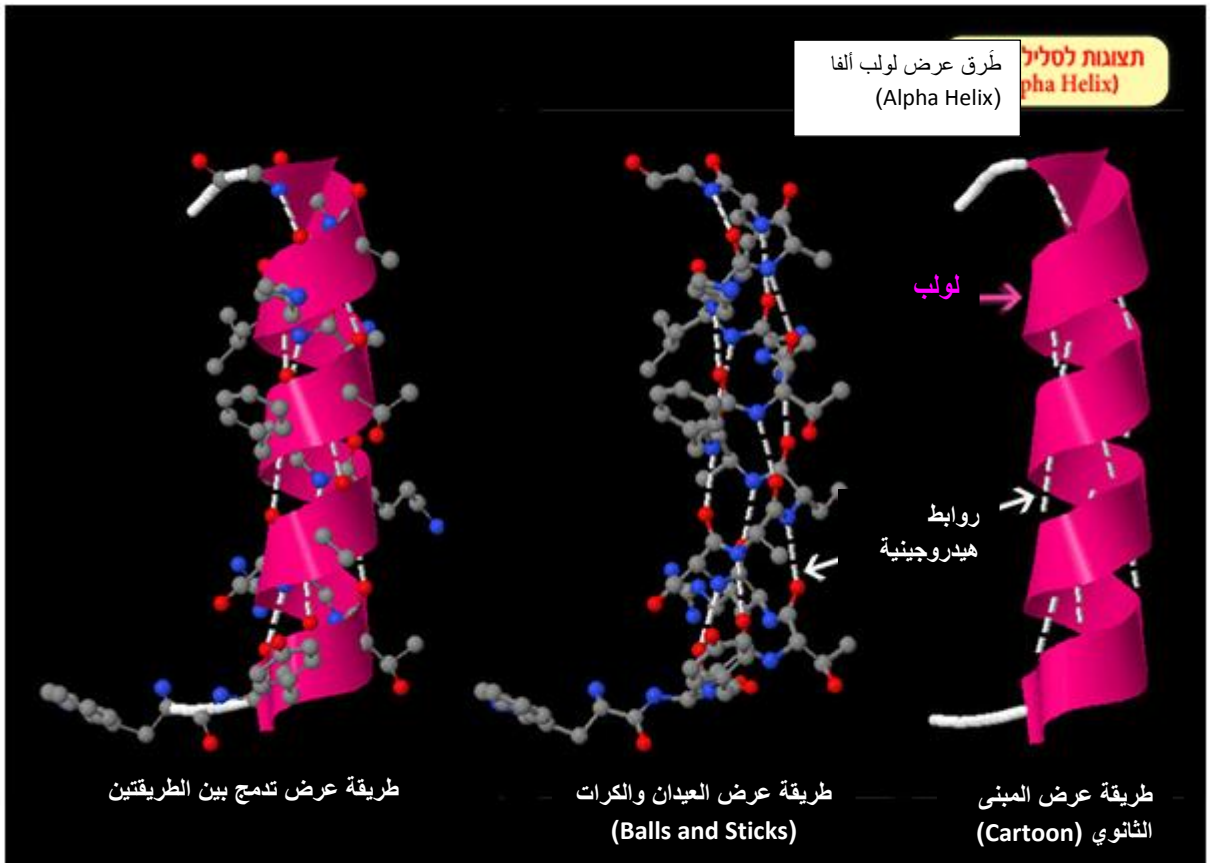
الشاشة 5: مبنى البروتين IPNS بطريقة عرض المبنى الثانوي (Cartoon)

3. أذكروا ما هي المباني الثانويّة الموجودة في بروتين IPNS؟

للمعلم: يُمكن أنْ نُلاحظ وجود لوالب ألفا (باللون الوردي) ومسطّحات صفائح بيتا (باللون الأصفر) في بروتين IPNS. الأجزاء التي تربط بين هذه المباني تُسمى انحناءات أو التفافات (סיבובים (turns)أو לולאות (loops)) وهي ملوّنة بالأبيض.

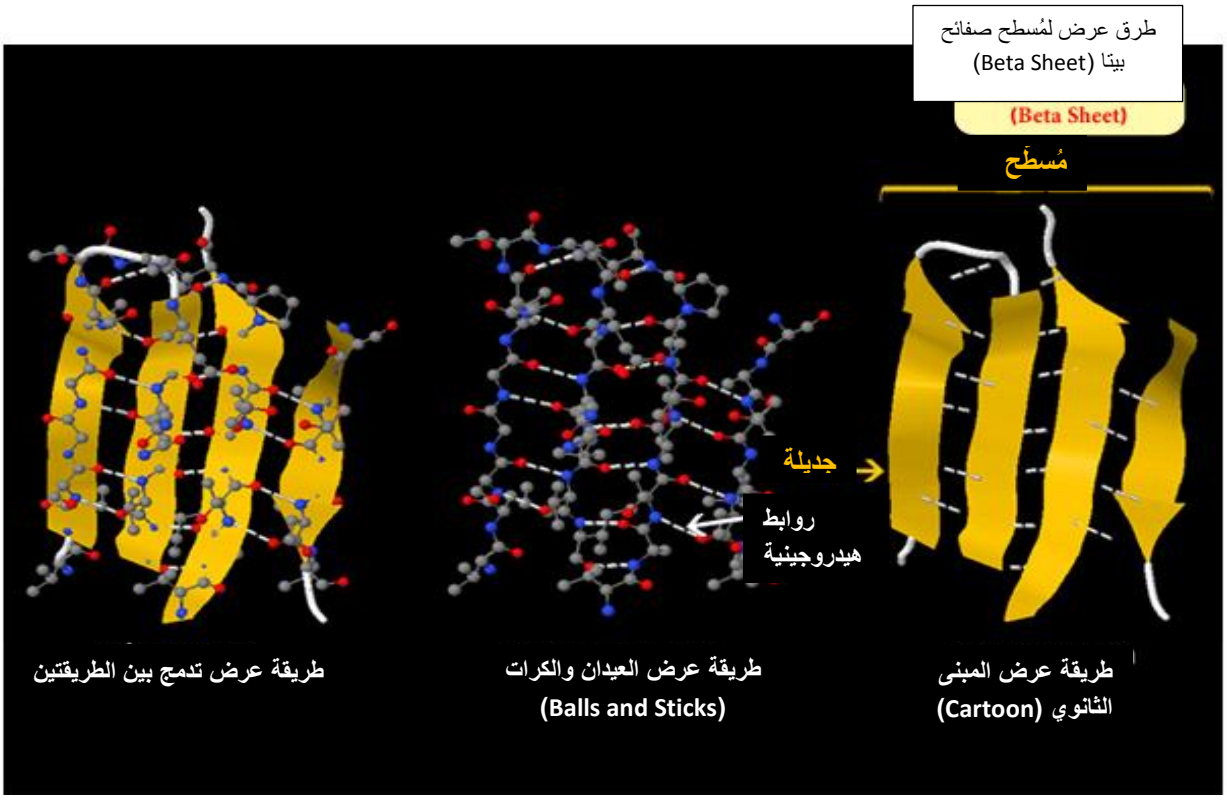
تتواجد في البروتين ثلاثة أنواع أساسيّة من المباني الثانويّة:

لولب ألفا (סליל אלפא-alpha helix) – هو مبنى لولبيّ كالنابض (الرسم 4)، ينتج الشكل اللّولبيّ بسبب الروابط الهيدروجينيّة (الخطوط البيضاء المقطّعة) التي تربط بين حامض أميني وبين الحامض الأميني الذي يبعد عنه أربعة أحماض أمينيّة في تسلسل البروتين .

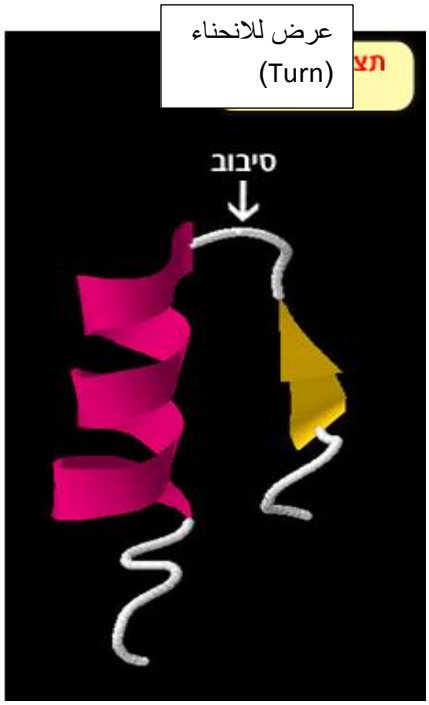


الرسم 4: لولب ألفا والروابط الهيدروجينيّة (الخط المُتقطع باللّون الأبيض) التي تنتج بين ذرّة أكسجين أو ذرّة نيتروجين وبين ذرّة هيدروجين .

مسطَّح صفائح بيتا (משטח בטא -beta sheet) – مبنى يُشبه المسطح، ينتج بسبب وجود روابط هيدروجينيّة بين مقاطع متقابلة من السلاسل البوليببتيدية (الرسم 5). كلّ مقطع في مُسطَّح صفائح بيتا يُسمّى جديلة (גדיל-strand).



رسم 5 : مسطح صفائح بيتا والروابط الهيدروجينيّة (الخط المُتقطّع باللّون الأبيض) التي تنتج بين ذرّات الأكسجين أو ذرّات النيتروجين وبين ذرّات الهيدروجين .

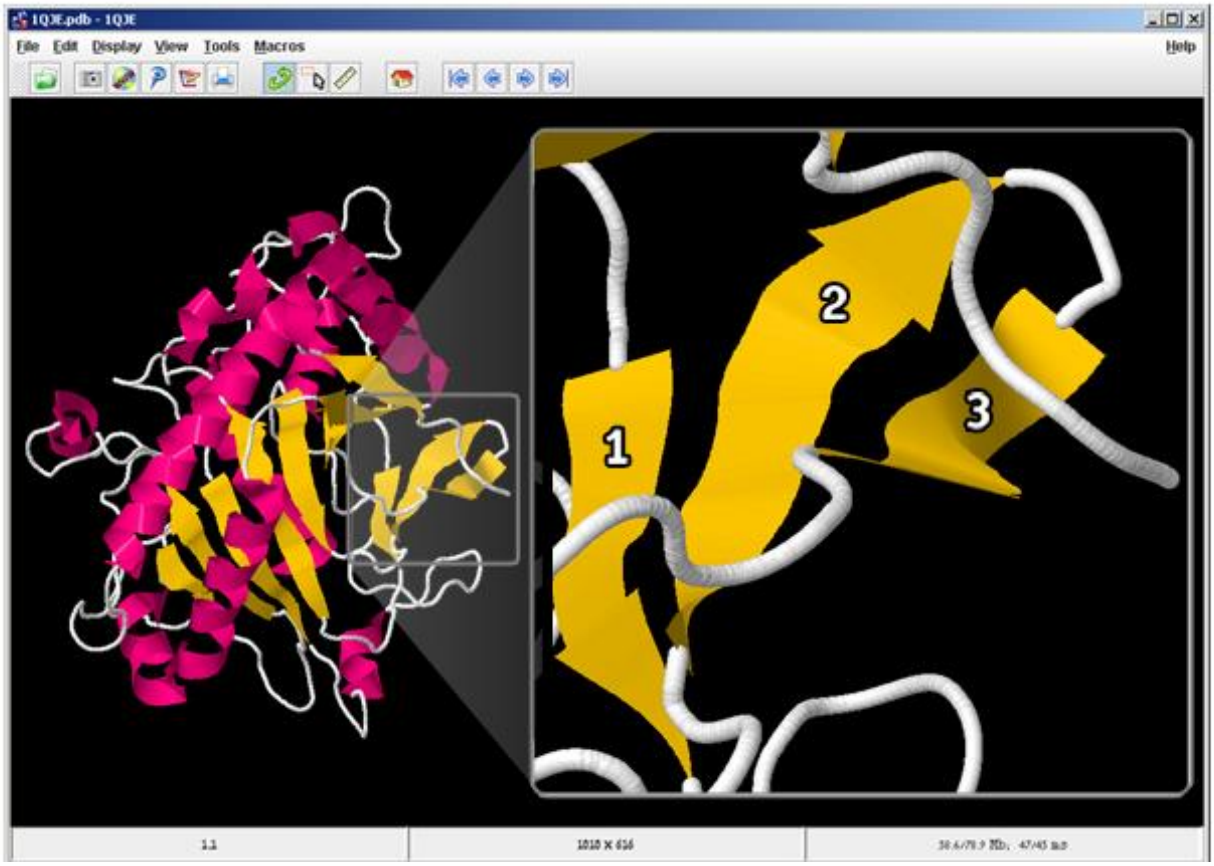


انحناءات أو التفافات **(סיבוב -turn ולולאה-loop)** – تقوم هذه المباني بتغيير اتجاه السلسلة البوليببتيديّة (السلسلة البروتينيّة). وهي تشكّل مناطق ربط بين لوالب ألفا وبين مُسطّحات صفائح بيتا (رسم 6).

رسم 6: التفاف يربط بين لولب ألفا وبين مسطح صفائح بيتا .

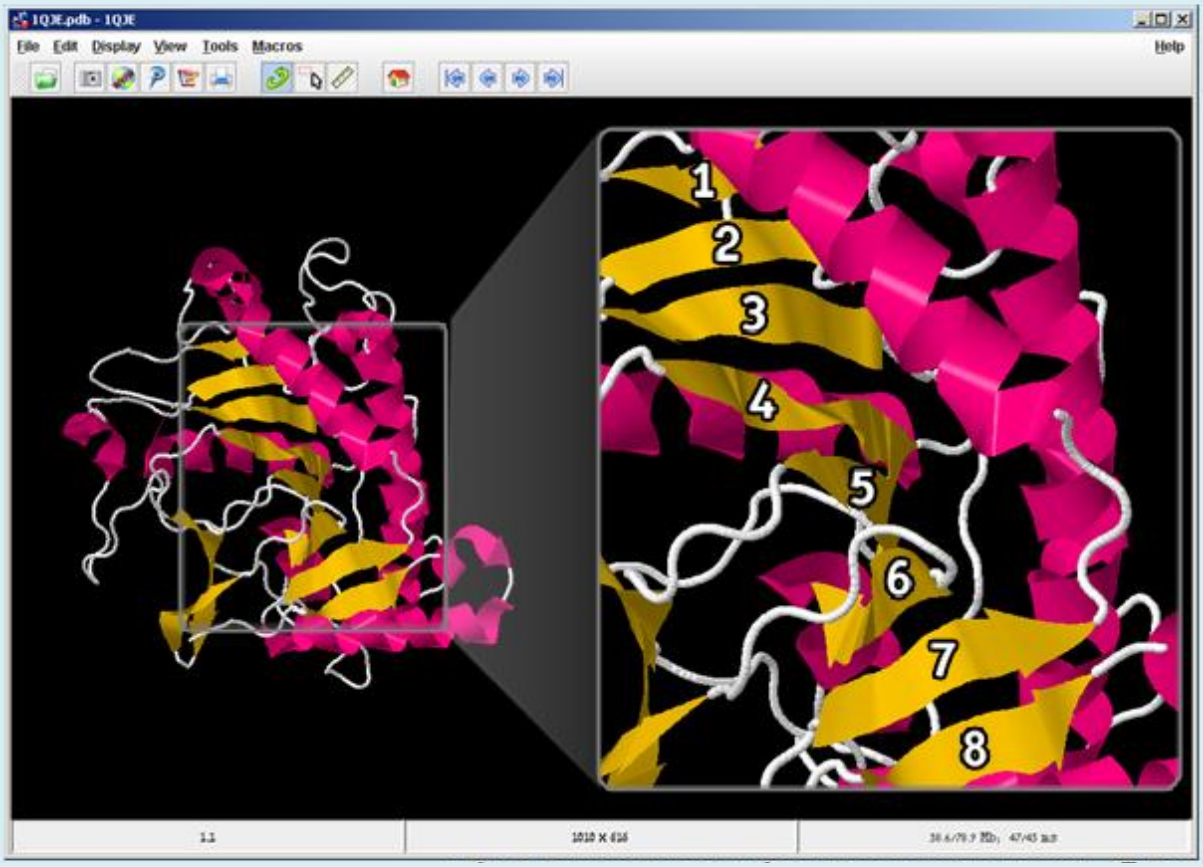
نعود إلى البروتين IPNS

4. يُمكننا أنْ نلاحظ وجود مُسطحيّ صفائح بيتا في الإنزيم IPNS؛ أحدهما يحتوي على ثلاثة جدائل (الشاشة 6). كمْ جديلة تتواجد في المُسطَّح الثاني؟
   - ا. جديلة واحدة .
   - ب. ثلاثة جدائل .
   - ج. ثمانية جدائل .
   - لا يمكن المعرفة .



الشاشة 6: في الإنزيم IPNS يوجد مسطحيّ صفائح بيتا. في الجهة اليُمنى يُمكن أنْ نرى تكبير لأحدهما والمُشار إليه بمُربع رمادي، كل جديلة فيه مُرقّمة برقم مُعيّن.

كما نُلاحظ في الرسم 7، مُسطّح صفائح بيتا مكوّن من 8 جدائل. لتسهيل رؤيتها تمَّ ترقيم هذه الجدائل.



الرسم 7: في مُسطّح صفائح بيتا الثاني الموجود في البروتين ثمانية جدائل

طريقة عرض المبنى الفراغي الذرّي (روابط فاندر فالس)

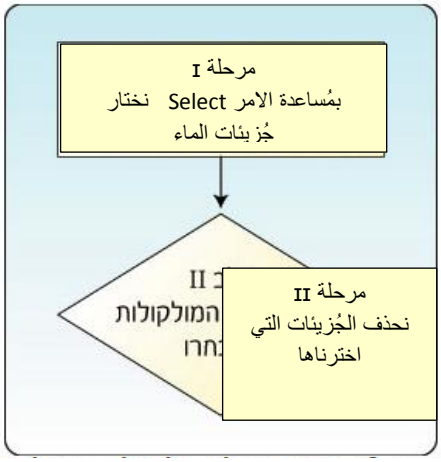
عرض المبنى الثانوي هي طريقة عرض تخطيطيّة فقط، حيث تعرض وحدات البناء الأساسيّة في مبنى البروتين ثلاثيّ الأبعاد: لولب ألفا، مسطح صفائح بيتا، التفافات وانحناءات؛ كذلك فهي تعرض مكان هذه الوحدات الواحدة بالنسبة للأخرى. علينا أنْ نتذكَّر أنَّ مبنى البروتين لا يظهر في الواقع على شكل لوالب ومسطّحات، وهذا فقط نموذج يعرض مبنى البروتين بطرق مختلفة. لو تمكَّنا من النظر إلى البروتين في بيئته الطبيعية، لكُنّا نرى جُزيئة مُنطوية على نفسها بكثافة عالية لتظهر كرة صغيرة.

الآن نقوم بعرض البروتين بطريقة نتعلّم فيها عن مبناه الفراغي وعن حجم الذرّات التي تُكوِّنه. في بيئة العمل نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة. نختار من قائمة الإمكانيّات الإضافيّة **Style ➔ Scheme ➔ CPK Spacefill** .

هذه هي طريقة العرض الفراغي الذرّي للبروتين، تُعرض فيها كلّ ذرة ككرة، بحيث أنَّ حجم الكرة والبعد بين الكرات يُعبِّر عن حجم الذرّة والبعد بين الذرّات. لذلك تُسمّى طريقة العرض هذه ايضًا باسم طريقة عرض الحجم الذرّي. من المقبول أنْ نعتبِر هذه الطريقة أيضًا طريقة عرض روابط فاندر فالس קשרי הואן דר-ואלס، لأنَّ حجم السحابة الألكترونيّة (حجم الكرة) ومساحة السطح هي من بين العوامل الأساسيّة (إلى جانب القطبيّة- קוטביות) التي تؤثر على قوة روابط فاندر فالس الموجودة بين الذرّات وبين الجُزيئات.

الأمر Select:

يعرض قسم من الكرات الحمراء ذرّات الأكسجين الموجودة في جزيئات الماء التي تحيط البروتين. نقوم بإزالة ذرات الأكسجين التابعة للماء من النموذج. لهذا الهدف نستعمل الأمر Select الذي يُمكّنا من اختيار جُزء من النموذج. هذا الأمر مبني من مرحلتيْن كما هو معروض في الرسم 8: بمُساعدة الأمر Select نختار جزء البروتين الذي نرغب بتنفيذ الأمر عليه. في هذه الحالة جُزيئات الماء؛ وفي المرحلة التالية ننفِّذ الأمر على الجزء الذي اخترناه، في هذه الحالة نُزيل جُزيئات الماء من النموذج. نعود إلى بيئة العمل وننفِّذ الخطوات التالية :



الشاشة 8: تنفيذ عمليّة على قِسْم من البروتين يتكوّن من مرحلتين: في المرحلة I يتمّ اختيار الجزء المطلوب من البروتين وفي المرحلة II يتمّ تنفيذ الأمر المطلوب

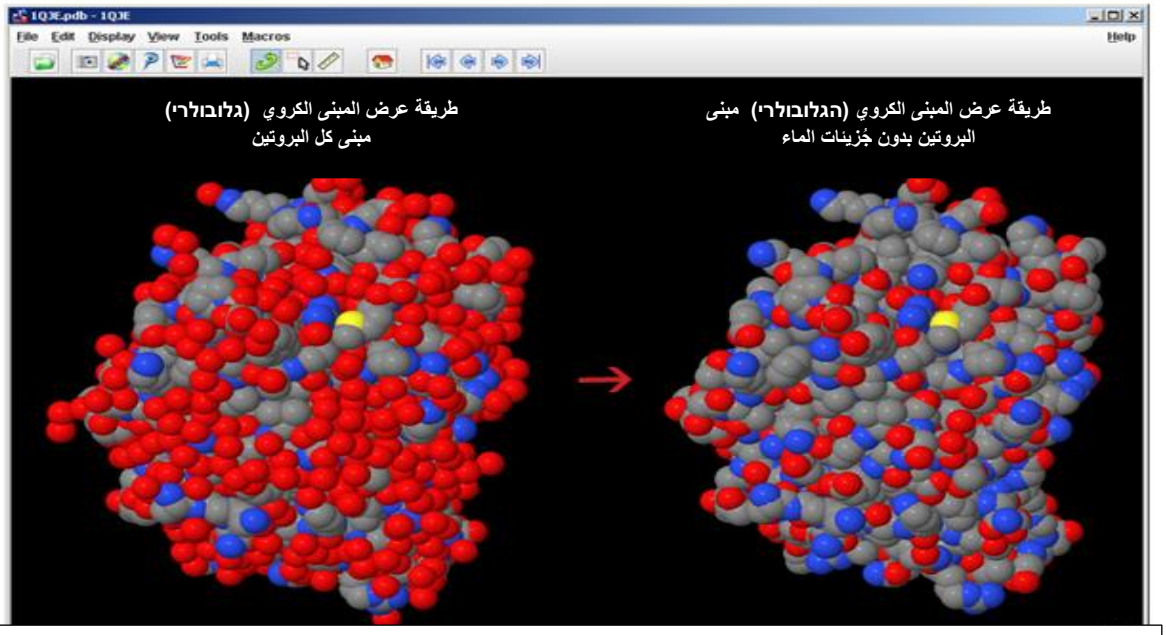
- في بيئة العمل، نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة ونختار من القائمة **Select ➔ Hetro ➔ All Water**

5. هل حدث تغيير في مبنى البروتين بعد تنفيذ هذا الأمر؟
   - أ. نعم.
   - ب. لا.

الإجابة هي: ب. انتبهوا، بعد تنفيذ الأمر Select لم يحدث تغيير في عرض النموذج، فقط اخترنا قِسْم مُعيَّن من البروتين – في هذه الحالة جُزيئات الماء التي تُحيط البروتين – وحتى الآن لم نُنفذ أيْ أمر يُغيِّر عرض نموذج البروتين.

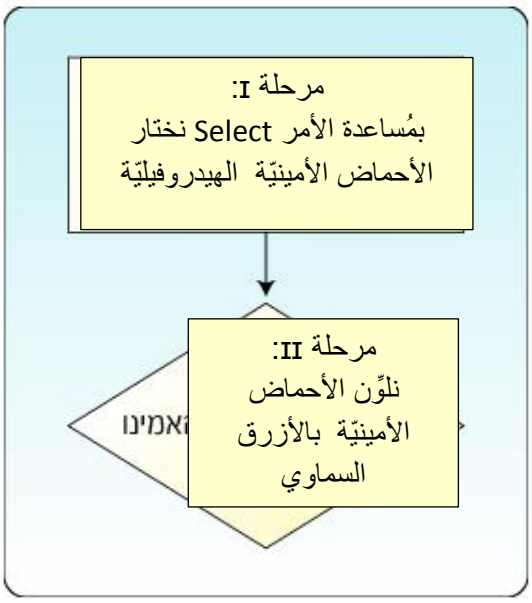
- نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة ونختار **Style ➔ Atoms ➔ Off**.

تمَّت إزالة جُزيئات الماء من النموذج والآن تظهر أمامنا طريقة عرض الحجم الذرّي للبروتين، بدون جُزيئات الماء التي تحيطه (الرسم 9).



الرسم 9: نموذج البروتين IPNS بطريقة العرض CPK Spacefill قَبْل (على اليسار) وبعد (على اليمين) إزالة جُزيئات الماء من النموذج.

6. معظم البروتينات التي تذوب في الماء ذات مبنى شبيه بالكرة ولذلك فهي تُسمّى بروتينات كرويّة (חלבונים גלובולריים). يظهر المحلول المائي لبروتينات كهذه كمحلول صافٍ. ناقشوا الأمر فيما بينكم وخمِّنوا سبب ذلك. تطرَّقوا بإجابتكم لمكان الأحماض الأمينيّة الهيدروفوبيّة (الكارهة للماء) הידרופוביות والأحماض الأمينيّة الهيدروفيليّة (المحبة للماء) הידרופיליות في البروتين؟



الرسم 10 : الإشارة إلى الأحماض الأمينيّة الهيدروفيليّة في النموذج هي عملية مكوَّنة من مرحلتين.

للمعلم: الإجابة للطلاب والمعلِّمين تُعطى بعد أمر الموافقة في الفقرة التالية

البروتينات الكرويّة (חלבונים גלובולריים) هي بروتينات تذوب في الماء بسبب كوْن الأحماض الأمينيّة الهيدروفوبيّة الكارهة للماء موجودة داخل البروتينات وليست مكشوفة للماء؛ بينما الأحماض الأمينيّة الهيدروفيليّة (القطبية) موجودة في الغالب على السطح الخارجي للبروتين ومعرَّضة للبيئة المائيّة التي يتواجد فيها. نقوم بتلوين الأحماض الأمينيّة الهيدروفيليّة باللّون الأزرق السماويّ. تحتاج هذه العملية أيضًا إلى استعمال الأمر Select حيث نرغب باختيار جزء من النموذج الكامل فقط وتنفيذ الأمر على هذا الجزء فقط، وفي هذه الحالة تلوين الأحماض الأمينيّة الهيدروفيليّة (القطبيّة)(الرسم 10).

نعود الى بيئة العمل وننفِّذ الأوامر التالية:

- نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة. نختار من قائمة الإمكانيّات الإضافيّة **Select ➔ Protein ➔ Polar Residues.**
- نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة ونختار **Color ➔ Atoms ➔ Cyan.**

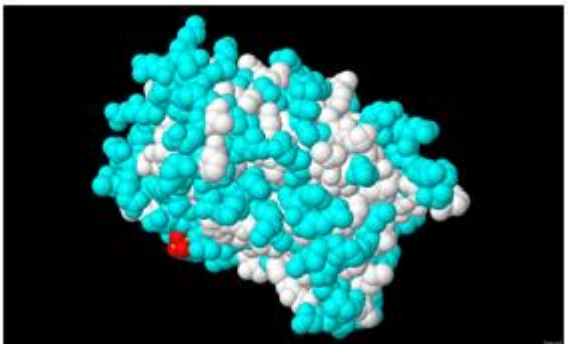
نلوِّن الأحماض الأمينيّة الهيدروفوبيّة (غير قطبيّة) باللّون الأبيض. نعود إلى بيئة العمل ونُنفِّذ الأوامر التالية:

- نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة. في قائمة الإمكانيّات الإضافية، نختار **Select ➔ Protein ➔ Nonpolar Residues**
- نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة ونختار **Color ➔ Atoms ➔ White** .

للمعلم: مادة هيدروفيليّة هي مادة تذوب جيدًا في الماء، لذلك هي مواد قُطبية أيضًا. الأداة Jmol تَنسب الأحماض الأمينيّة القطبيّة للمواد الهيدروفيليّة، والأحماض الأمينيّة غير القطبيّة الى المواد الهيدروفوبيّة. هذا التعريف الشامل ليس جيدًا من ناحية كيميائيّة، حيث لا يوجد تطابق تام بين المصطلحات قطبيّ وهيدروفيليّ، وبين المصطلحات غير قطبيّ وهيدروفوبيّ. هكذا مثلًا الأحماض

الأمينيّة المشحونة بشحنة سالبة (كحامض الأسبرتيك والجلوتاميك) أو موجبة (مثل الأرجنين، ليسين وهستيدين) هي هيدروفيليّة، ولكنْ بسبب الشحنة وليس بسبب القطبيّة.

الآن الأحماض الأمينيّة الهيدروفيليّة ملوَّنة باللّون الأزرق السماوي بينما الأحماض الأمينيّة الهيدروفوبيّة ملوَّنة باللّون الأبيض (الشاشة 7).



الشاشة 7: نموذج بروتين IPNS، فيه الأحماض الأمينيّة الهيدروفيليّة ملوَّنة بالأزرق والأحماض الأمينيّة الهيدروفوبيّة ملونة بالأبيض.

7. تمعَّنوا في النموذج الذي أمامكم. أديروا البروتين وحدِّدوا ما هو اللّون الذي يُسيطر على السطح الخارجي للبروتين (السطح المكشوف للبيئة المائيّة في الخليّة) أبيض أمْ أزرق؟ ماذا تستنتج من ذلك؟ كيف يُمكنْ تفسير هذه الظاهرة؟

للمعلم: اللّون المُسيطر على السطح الخارجيّ للبروتين هو الأزرق، مع أنَّه بإمكاننا مُلاحظة "جُزر" باللّون الأبيض. الاستنتاج من ذلك هو أنَّ مُعظم الأحماض الأمينيّة الموجودة على السطح الخارجي للبروتين هي أحماض أمينيّة هيدروفيليّة، مُحبة للماء. بالرّغم من ذلك توجد "جُزر بيضاء "، جُزر من الأحماض الأمينيّة الهيدروفوبيّة، الكارهة للماء، مكشوفةً للمُذيب. بالإمكان تفسير ذلك بأنَّه من المُحتمل أنْ تكون هذه المناطق هي مناطق تلامس البروتين وارتباطه ببروتينات أخرى، وعندها لا تكون هذه المناطق مكشوفة للمُذيب بشكل دائمٍ.

8. هل تستطيع بطريقة العرض الحاليّة (طريقة عرض المبنى الفراغي الذريّ) أنْ تُحدِّد مكان الموقع الفعّال؟

- أ. نعم .
- ب. لا .

الإجابة هي: ب. طريقة عرض المبنى الفراغي الذريّ تُمكِّن في الأساس من فحص سطح البروتين بدقة (مبنى القسم الخارجي)، ولكنَّها لا تُزوِّد معلومات كافية عن البروتين من الداخل (مبنى القسم الداخلي). مثلًا بهذه الطريقة يصعب جدًّا أنْ تُلاحظ جُزيئة مادة الأساس (السبسترات) الموجودة داخل البروتين، قريبًا جدًّا من الموقع الفعّال، بالرَّغم من أنَّ لوْن جُزيئة مادة الأساس في النموذج ليس أزرق سماوي أو أبيض. لذلك طريقة العرض CPK Spacefill غير مُلائمة لبحث الموقع الفعّال ذا المبنى الذي يُشبه في أغلب الأحيان "جيب" داخلي في البروتين. بالإضافة إلى ذلك في المَهمّات السابقة وجدنا أنَّ الموقع الفعّال يتركَّب من ثلاثة أحماض أمينيّة. من أجل تحديد مكان هذه الأحماض، علينا اختيارها وتأشيرها بطريقة تختلف عن بقيّة الأحماض الأمينيّة في البروتين، وعندها نستطيع تحديد مبنى الموقع الفعّال ومكانه.

المَهمّة IV: تمعّنوا في المبنى الفراغي للبروتين IPNS بمساعدة الأداة Jmol (صفحة 5 من 7)

عرض مبنى الموقع الفعّال

حصلنا على انطباع عن المبنى الثانوي للبروتين والمبنى الفراغي الذرّي الخاص به. لكنْ بسبب عدم تمَّكنِنا من رؤية الأحماض الأمينيّة المنفردة بطريقة العرض هذه، لا نستطيع أنْ نحدِّد مكان الموقع الفعّال. حتّى نتغلَّب على هذا التحدي نعرض كل البروتين بطريقة عرض المبنى الثانوي، أما الأحماض الأمينيّة التي تكوّن الموقع الفعّال فنعرضها بشكلٍ ولونٍ مختلفٍ.

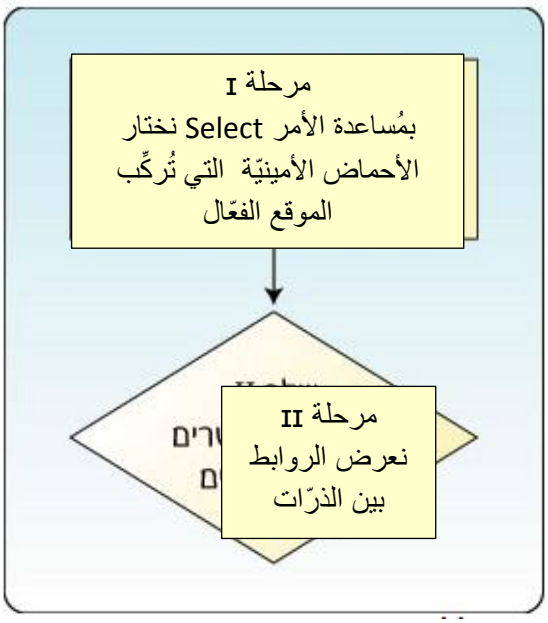
في طريقة العرض عيدان وكرات نستطيع رؤية كل ذرّة في البروتين، كذلك نرى الروابط الكيميائيّة بين الذرّات، لكنْ من الصعب أنْ نُميِّز ما هي المباني الثانويّة الموجودة في البروتين. المبنى الثانوي للبروتين هو المبنى الذي يعرض البروتين بحسب المباني الأساسيّة التي تتكرَّر فيه: لولب ألفا باللّون الورديّ، مُسطَّحات صفائح بيتا باللّون الأصفر، بينما المناطق التي تصل بين هذه المباني: التفافات والانحناءات فتظهر باللّون الأبيض. نعود إلى بيئة العمل Jmol ونغيِّر طريقة عرض البروتين إلى طريقة عرض المبنى الثانوي (Cartoon).

9.ما هو الأمر الذي يجب أنْ نُنفِّذه في بيئة العمل؟ بعد أنْ تكتبوا الأمر جرِّبوا تنفيذه في بيئة العمل.

في المرحلة السابقة (قبل تنفيذ الأمر في سؤال 9) قُمنا باختيار قِسْم من الأحماض الأمينيّة فقط (الأحماض الهيدروفوبيّة)، علينا الآن أنْ نختار كلّ الأحماض الأمينيّة في البروتين، عمليًّا كل الأحماض الأمينية التي تُركِّب المبنى، وفقط عندها يمكنْ تغيير طريقة عرض النموذج. لهذا الهدف نُنفِّذ الأوامر التاليّة:

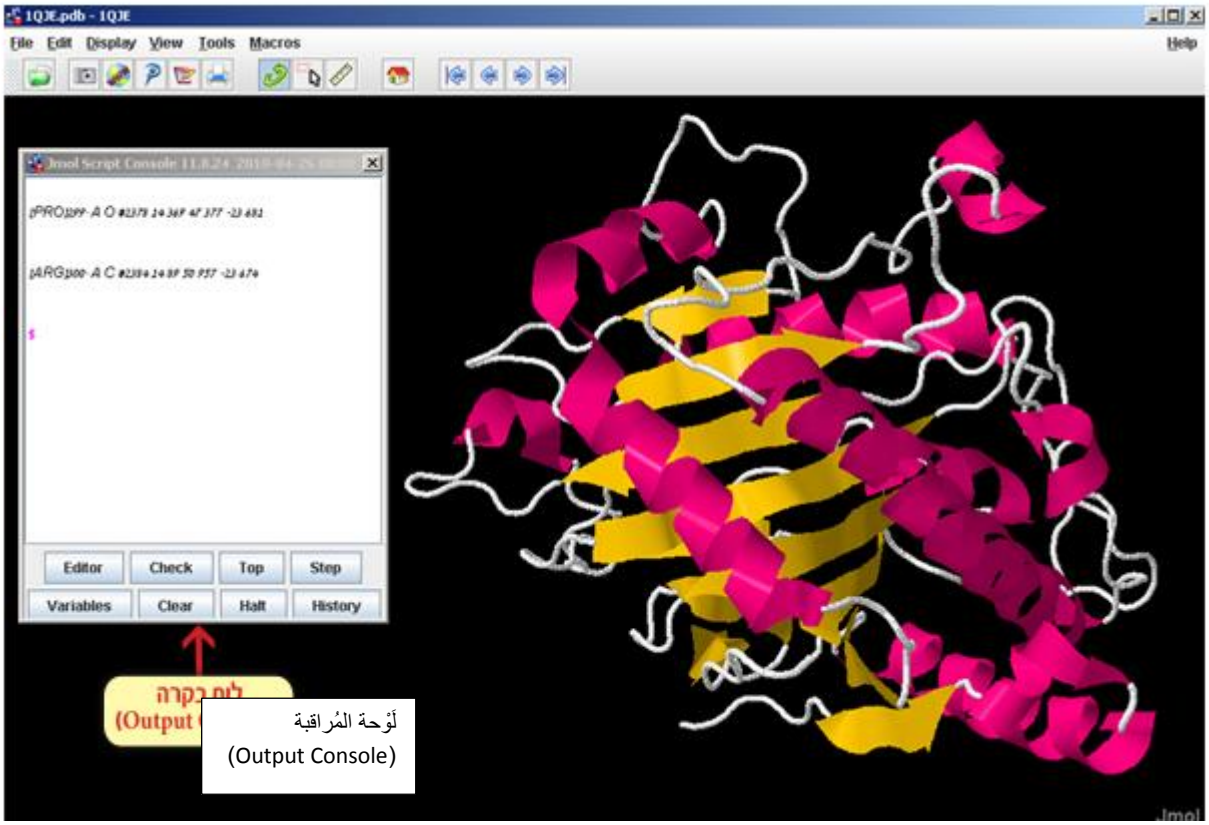
- نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة. نختار من قائمة الإمكانيّات الإضافيّة Select ➔ All.
- نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة ونختار Style ➔ Scheme ➔ Cartoon.

الآن، البروتين معروض بطريقة عرض المبنى الثانوي. نستعمل الأمر Select من أجل اختيار الأحماض الأمينيّة التي تُركِّب الموقع الفعّال ونعرضها في النموذج. هذه العمليّة مبنيّة من مرحلتيْن (رسم 11): اختيار القِسْم الذي نُنفِّذ عليه الأمر، في هذه الحالة نختار الأحماض الأمينيّة التي تُركِّب الموقع الفعّال بمُساعدة الأمر Select؛ وفي المرحلة التاليّة نعرض الروابط بين الذرّات، لنفس الأحماض الأمينيّة التي اخترناها بحيث نستطيع رؤيتها. نعود إلى بيئة العمل ونُنفِّذ الأوامر التاليّة :



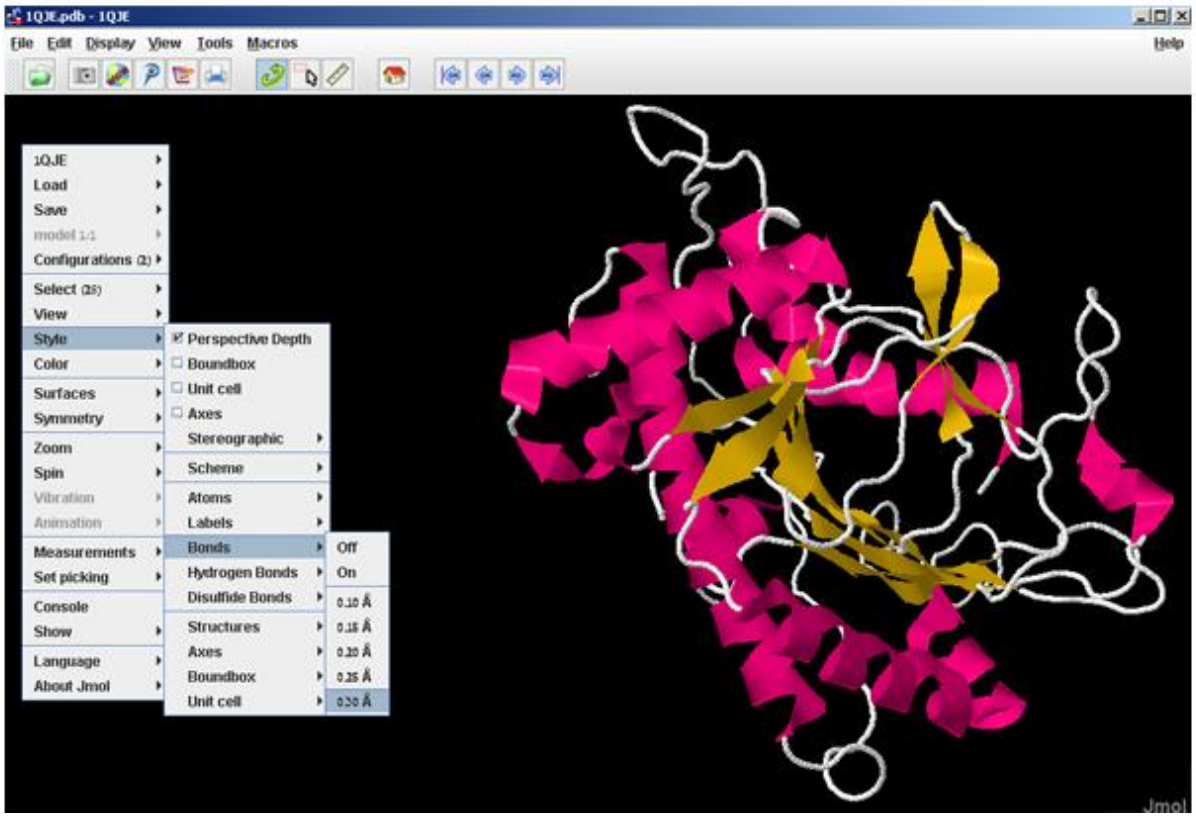
الرسم 11: عرض الروابط بين ذّرات الأحماض الأمينيّة التي تُركِّب الموقع الفعّال هو عمليّة مُكوَّنة من مرحلتيْن

نفتح لَوْحة المُراقبة (الشاشة 8): نختار من القوائم الموجودة في أعلى بيئة العمل ما يلي: **File ➔ Console...**، أو بدلًا من ذلك بالإمكان الضّغط على الجهة اليُمنى للفأرة واختيار **Console** من قائمة الإمكانيّات الإضافيّة.



الشاشة 8: فتح لَوْحة المُراقبة

- لاختيار الأحماض الأمينيّة التي تُركِّب الموقع الفعّال، نكتب في نافذة لَوْحة المُراقبة الأمر **select 214, 216, 270** (يُمكن نسخ الأمر بواسطة ctrl+C، أوْ" نسخ "، ونقله للنافذة بمُساعدة ctrl+V أو" لَصْق")، ثُمّ نضغط Enter. اخترنا بواسطة هذا الأمر الأحماض الأمينيّة التي تُركِّب الموقع الفعّال، من خلال تسجيل رقم مواضع الأحماض الأمينيّة التي تُركِّبه، بحيث تُكتب فاصلة بين الرقم والآخر. يجب أنْ ننتبه أنَّ الأداة Jmol أشارت الى أنَّه تمَّ اختيار 28 ذرّة (عدد الذرّات الموجودة في الأحماض الأمينيّة الثلاثة التي تكوِّن الموقع الفعّال). بعد اختيار الأحماض الأمينيّة لَمْ يحدث تغيير في طريقة عرض البروتين.
- لعرض الروابط بين ذرّات الأحماض الأمينيّة التي تكوِّن الموقع الفعّال يجب أنْ نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة ثمّ اختيار الإمكانيّة **Style ➔ Bonds ➔ 0.3 Å** (الشاشة 9).



الشاشة 9: الأمر اللّازم لعرض الروابط بين ذرّات الأحماض الأمينيّة التي اخترناها بالحجم (السُّمك) الذي نرغب به.

- نُدير البروتين ونجد ما هو التغيير الذي حصل لنموذج البروتين الذي أمامنا.
- تغيير لون الروابط: نضغط في بيئة العمل على الجهة اليُمنى للفأرة. نختار **Color ➔ Bonds ➔ Cyan** من قائمة الإمكانيّات الإضافيّة.

10. دوّروا البروتين من جديد، قرّبوه وأبعدوه، ماذا تغيَّر في نموذج البروتين الذي أمامنا.

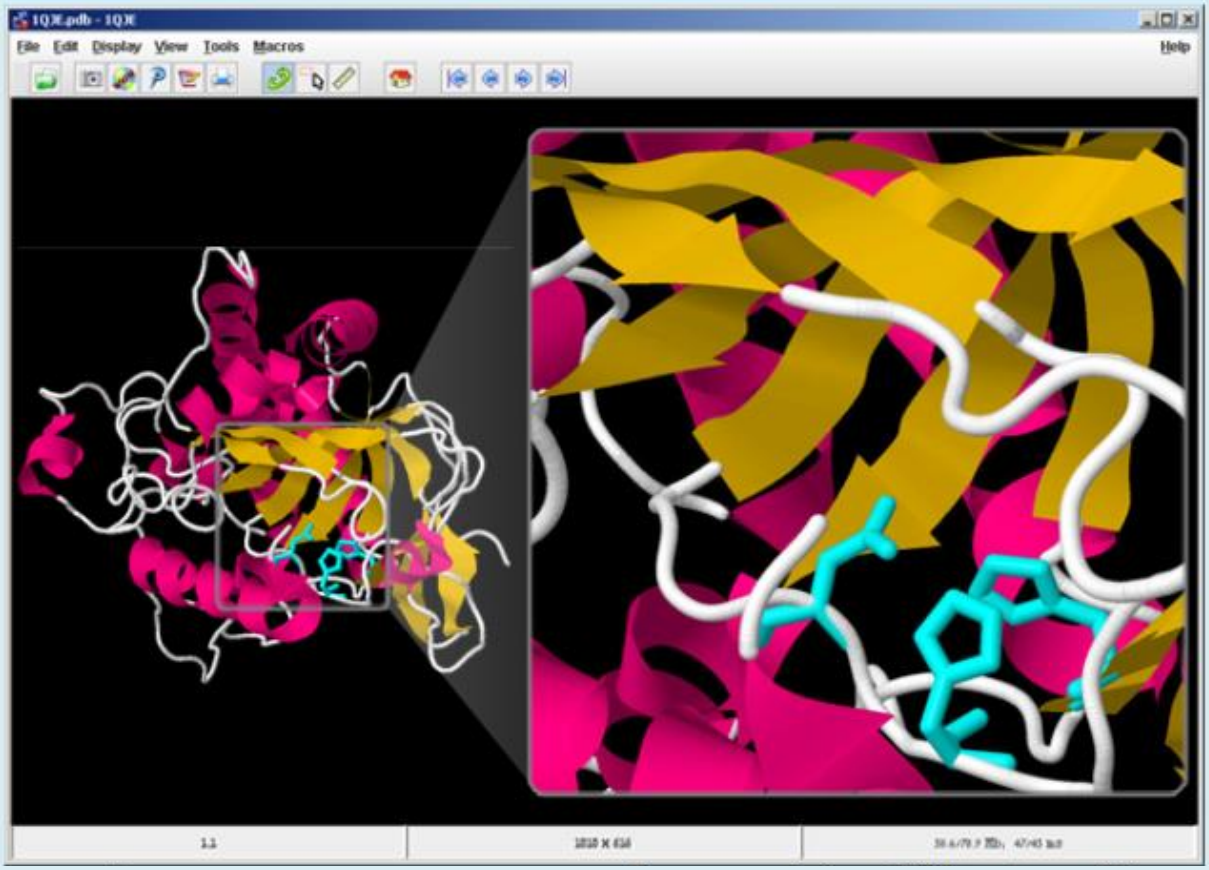
- أ. يُعرض كل البروتين بطريقة عرض الروابط بين الذرّات.
- ب. الروابط بين الذرّات تُعرض فقط للأحماض الأمينيّة التي اخترناها.
- ج. الروابط بين الذرّات في الأحماض الأمينيّة التي اخترناها لوّنَت بالأزرق السماوي.
- د. الإجابتان ب و ج صحيحتان.

الإجابة هي: د. بواسطة الأمر **Style ➔ Bonds ➔ 0.3 Å** نطلب أنْ يكون سُمْك الروابط الكيميائيّة (Bonds) التي تُعرض بفصل 0.3 Å. Å (أنجستروم) هي وحدة قياس طول مساوية ل 10^{-10} متر. ننتبه أنَّ هذا الأمر لا يعني أنَّ حجم الذرّات أو الروابط في الجُزيئة تغيّر، ولكنْ فقط طريقة عرضها تغيَّرت. طريقة العرض هذه تُمكِّننا من رؤية الروابط الكيميائيّة بشكل واضح. في الأمر **Color ➔ Bonds ➔ Cyan** نطلب أنْ يتِمَّ تلوين الروابط الكيميائيّة التي اخترناها (Bonds) باللّون الأزرق السماوي (Cyan)، وهكذا نستطيع رؤيتها بشكل واضح.

11. هل الأحماض الأمينيّة التي تكوِّن الموقع الفعّال قريبة من بعضها البعض أم بعيدة عن بعضها البعض في المبنى الفراغي للبروتين؟

- أ. قريبة من بعضها البعض.
- ب. بعيدة عن بعضها البعض.
- ج. حامضان أمينيّان قريبان من بعضهما أما الحامض الثالث فهو بعيد عنهما.
- د. لا يمكن المعرفة .

الإجابة هي: أ. الأحماض الأمينيّة الثلاثة التي تُركِّب الموقع الفعّال قريبة من بعضها البعض في المبنى الفراغي للإنزيم. في الشاشة 10 يُمكن رؤية مكان الأحماض الأمينيّة الثلاثة التي تكوِّن الموقع الفعّال.



الشاشة 10: كّل البروتين IPNS (من اليسار) والتركيز على الروابط بين ذرّات الأحماض الأمينيّة التي تكوِّن الموقع الفعّال (تمَّ تكبير القسم المُشار له بالمربع رمادي وعرضه في الجهة اليُمنى).