الإنزيم المُصنّع لـ "أي تي بي" ATP : المحرك الجزيئي

عبد الكريم كاملي
أستاذ بقسم العلوم الطبيعية، المدرسة العليا للأساتذة، القبة

مقدمة

تحتاج الكائنات الحية إلى مصدر للطاقة كما تحتاج إلى آلية تسمح لها بتحويل الطاقة إلى صور قابلة للاستعمال تمكّنها من القيام بوظائفها الأساسية والمحافظة على حياتها. لكن الكائنات الحية تختلف في المصدر الذي تحصل منه على الطاقة وتشترك معظمها في آلية تحويل الطاقة من المصدر إلى الصورة القابلة للاستعمال والتي تكون في غالبية الكائنات الحية جزيئات "أي تي بي" ATP يتم إنتاجها بآلية معقدة يتدخل فيها الإنزيم المُصَنّع لـ "أي تي بي"، والمعروف باسم ATP Synthase في مرحلتها الأخيرة.

يمكن اعتبار هذا الإنزيم من أهم الإنزيمات الموجودة في الكائنات الحية والذي يمكّنها من إنتاج الطاقة القابلة للاستعمال للمحافظة على حياتها وبقائها. سيتم في هذا المقال التعرّف على هذا الإنزيم وعلى بنيته الفراغية وآلية عمله ضمن سلسلة طويلة من التفاعلات تسمح بإنتاج الطاقة في صورة "أي تي بي". هذا الإنزيم يعمل بطريقة عجيبة تختلف عن باقي الإنزيمات حيث تحدث أثناء عمله حركة دورانية تشبه دوران المحركات الميكانيكية بالرغم من أنه جزيئة بروتينية. فما هو هذا الإنزيم العجيب وما هو دوره؟ كيف يمكن لإنزيم أن يعمل كمحرك، وما هي الأدلة التجريبية على وجود هذه الحركة؟

تم تحديد البنية الفراغية للإنزيم المصنّع لـ "أي تي بي" وآلية عمله من قِبل العالمين جون والكر John Walker وبول بوير Paul Boyer في بداية التسعينيات. وقد تحصلا على جائزة نوبل للكيمياء سنة 1997 مناصفة بينهما. كان هذا الاكتشاف خاتمة الأبحاث حول دور الـ"أي تي بي" وآلية إنتاجه في الكائنات الحية. وتبعت ذلك تجارب عديدة مؤكدة ومكملة لهذا الاكتشاف.

John Walker Paul Boyer

شكل 1. صورة للعالمين اللذين اكتشفا بنية وآلية عمل الإنزيم سنة 1997

1. الكائنات الحية والطاقة

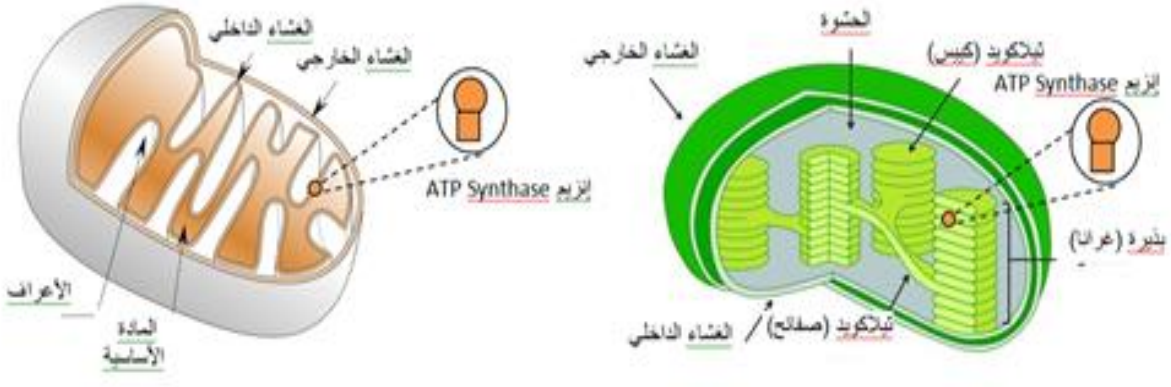
تنقسم الكائنات الحية من حيث المصدر الأصلي للطاقة إلى قسمين:

- الكائنات ذاتية التغذية autotrophes : هي كائنات يكون الضوء فيها هو المصدر الأول للطاقة وتمتلك القابلية على تحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية في شكل سكريات أساسا في البداية ليتم تحويلها إلى صور أخرى، ثم إلى طاقة قابلة للاستعمال في شكل جزيئات "أي تي بي". تمثل النباتات

الخضراء أهم هذه الكائنات وتتوفر ضمن خلاياها على عضيات خاصة تسمى الصانعات الخضراء chloroplasts تقوم بتحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية (سكريات) في عملية التركيب الضوئي photosynthesis.

- **الكائنات غير ذاتية التغذية** heterotrophes : هي كائنات تحتاج إلى أغذية عضوية (سكريات، دهون أو بروتينات) كمصدر للطاقة تقوم بتحويلها إلى طاقة قابلة للاستعمال في شكل "أي تي بي" أساسا في وظائفها المختلفة.

تشترك كائنات الفئة الأولى والثانية في عملية تحويل الأغذية العضوية (سكريات أو دهون أو بروتينات) إلى طاقة قابلة للاستعمال في شكل "أي تي بي" في عضية أخرى تتواجد في كل أنواع الخلايا ذات النواة الحقيقية تسمى الميتوكوندريا mitochondria. يتواجد الإنزيم المصنّع للـ"أي تي بي" ضمن الغشاء الداخلي للميتوكوندريا وضمن غشاء الثيلاكويد في الصانعات الخضراء ليقوم في كلا الحالتين بتركيب جزيئات الـ "أي تي بي" في عمليتين مختلفتين لغايات مختلفة.



شكل 2. رسم تخطيطي لما فوق بنية الصانعات الخضراء (اليمين) والميتوكوندري (اليسار)

سوف يتم التركيز في هذا المقال على دور الإنزيم المصنّع لـ "أي تي بي" في الميتوكوندريا أساسا عند أكسدة المواد العضوية لغرض إنتاج الطاقة القابلة للاستعمال. لكن آلية عمله التي يتم وصفها لاحقا تشبه كثيرا تلك التي تتم في الصانعات الخضراء مع بعض الاختلافات خاصة في اتجاه انتقال البروتونات وبعض تفاصيل البنية الفراغية.

مراحل هدم المواد الغذائية العضوية

تحصل الكائنات غير ذاتية التغذية مثل الإنسان على طاقتها من خلال هدم المواد الغذائية العضوية (سكريات ودهون أساسا وبروتينات بدرجة أقل). يمر هدم هذه المواد عادة بثلاث مراحل يتم فيها تدريجيا تكسير الروابط الكيميائية للحصول على الطاقة التي يتم تحويلها في النهاية إلى صورة قابلة للاستعمال ("أي تي بي").

بالنسبة للسكريات تمر مراحل الهدم أولا بهدم الغلوكوز في عملية التحلل السكري في الهيولى، ثم تستمر العملية في الميتوكوندريا من خلال تحويل ناتج التحلل السكري (البيروفات) إلى مركب Acetyl-CoA الذي يتم هدمه داخل حلقة كريبس في المادة الأساسية للميتوكوندريا. وخلال المرحلتين السابقتين، يتم إنتاج طاقة في صورة قابلة للاستعمال في صورة "أي تي بي" بكميات قليلة، ولكن معظم الطاقة التي تم استخراجها من السكريات لا تزال في صورة

إلكترونات غنية بالطاقة تحتاج إلى مرحلة أخيرة يتم فيها تحويل أغلب الطاقة التي كانت موجودة في المادة الغذائية العضوية إلى طاقة قابلة للاستعمال في صورة "أي تي بي". تتم هذه المرحلة الأخيرة على مستوى الغشاء الداخلي للميتوكوندريا، وتتدخل فيها بروتينات ناقلة للإلكترونات والإنزيم المصنع لـ"أي تي بي"، وتعرف هذه المرحلة بالفسفرة التاكسدية oxidative phosphorylation.

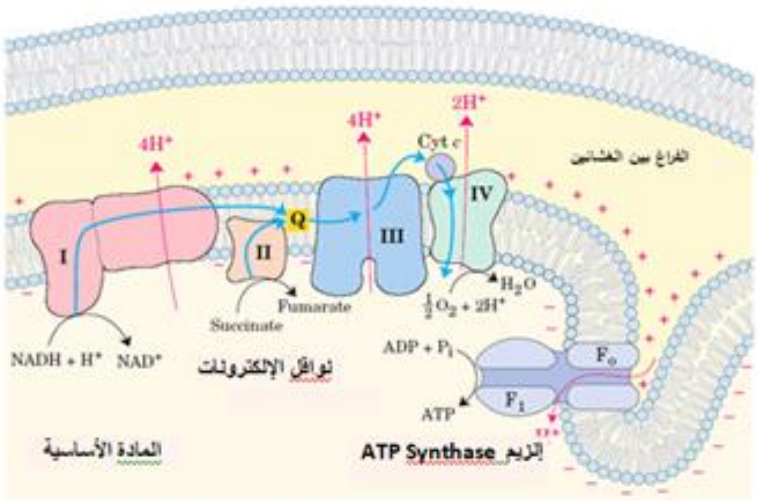
بالنسبة للمواد الأخرى، هناك مراحل هدم مختلفة في مرحلتها الأولى مع هدم السكريات، وتشترك في مرحلتها الثانية والأخيرة (حلقة كريبس والفسفرة الاكسدية). سيتم التركيز في هذا المقال على المرحلة الأخيرة فقط لأنه يتم تدخل فيها الإنزيم المصنّع لـ"أي تي بي".

2. الفسفرة التأكسدية

هي المرحلة الأخيرة ضمن مراحل هدم المركبات العضوية لغرض إنتاج الطاقة في معظم الكائنات الحية الهوائية، وتحدث عند الخلايا الحقيقة على مستوى الغشاء الداخلي للميتوكونجريا، وتتضمن الفسفرة التأكسدية عمليتان : أكسدة و فسفرة.

تشمل الأكسدة نزع الإلكترونات من المرافقات الإنزيمية المرجعة (NADH و FADH2) بواسطة الأكسجين O_2 (المستقبل النهائي للإكترونات) عبر مجموعة من نواقل الإلكترونات يطلق عليها مجتمعة اسم سلسلة نقل الإكترونات أو السلسلة التنفسية. هذه المرافقات الإنزيمية المرجعة تحمل إلكترونات غنية بالطاقة تم نزعها (أكسدة) أثناء مراحل هدم المواد العضوية.

كما يتم خلال انتقال الإكترونات إخراج البروتونات من بعض نواقل الإلكترونات التي تعمل على مضخات تنقل البروتونات عكس ندرج التركيز من المادة الأساسية إلى الفراغ بين الغشائين. يتشكل نتيجة لذلك فرق في تركيز البروتونات حيث يكون مرتفعا في الخارج مقارنة بالداخل. وتستعمل المضخات طاقة الإلكترونات لضخ البروتونات. تؤدي عودة البروتونات من الفراغ بين الغشائين إلى المادة الأساسية عبر الإنزيم المصنع لـ "أي تي بي" إلى حدوث العملية الثانية، وهي فسفرة ADP إلى "أي تي بي" بواسطة الإنزيم المصنع لـ"أي تي بي".

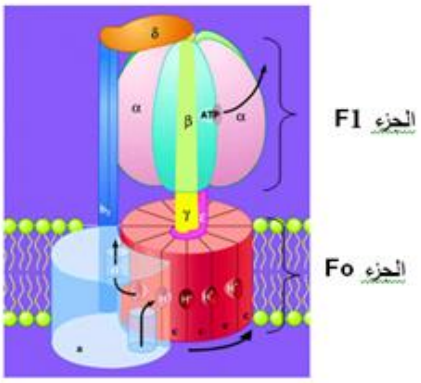


شكل 3. رسم تخطيطي وظيفي لآلية الفسفرة التأكسدية

من خلال الفسفرة التأكسدية، نلاحظ الدور المحوري والأساسي للإنزيم المصنع لـ "أي تي بي" في آخر السلسلة لإنتاج الطاقة القابلة للاستعمال. ومن خلال المخطط نلاحظ أن للإنزيم دورين يقوم بهما: إدخال البروتونات (قناة) وتركيب "أي تي بي" (إنزيم بناء). فكيف يقوم الإنزيم بهذين الدورين؟ للإجابة على هذا السؤال نحتاج إلى التعرف على بنية الإنزيم للوصول إلى فهم كيفية قيامه بهذين الدورين.

بنية الإنزيم المُصنع لـ "أي تي بي"

الإنزيم ذو بنية رابعية يتكون من 22 تحت وحدة موزعة بين جزئين: جزء ضمني في الغشاء الداخلي للميتوكوندريا يعرف بالجزء Fo، وجزء سطحي يمتد في المادة الأساسية ويعرف بـ F1 . لذلك يسمى الإنزيم الكامل عادة بـ FoF1 ATP Synthase . يتكون الجزء Fo من 11 تحت وحدة تتجمّع 10 منها داخل الغشاء في شكل أسطوانة يرمز لها بـ C10 (يرمز لكل تحت وحدة بالحرف C).

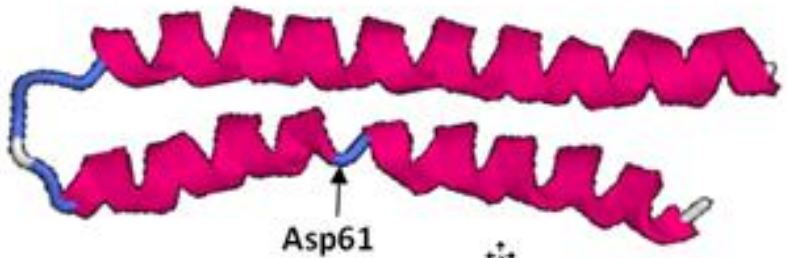


شكل 4. رسم تخطيطي لبنية إنزيم ATP Synthase يوضح مسار دخول البروتونات عبر الجزء Fo وموقع تركيب ATP في الجزء F1 .

بنية تحت الوحدة C

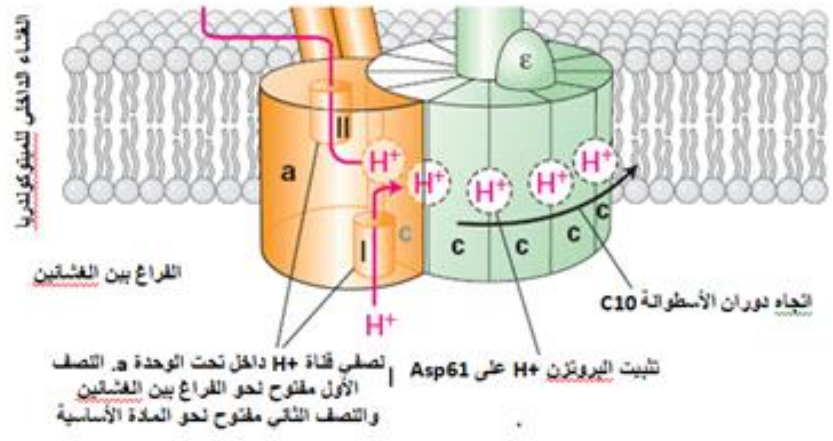
هي سلسلة متعددة الببتيد مكونة من 79 حمضا أمينيا تلتف في شكل 3 بنيات ثانيو حلزونية α تأخذ السلسلة الببتيدية شكل حرف U. يؤدي تجمّع تحت الوحدات العشرة إلى تشكل الأسطوانة C10 ضمن الغشاء الداخلي للميتوكوندريا.

تحتوي تحت الوحدة C في نقطة الانعطاف القصيرة الفاصلة بين البنيتين الحلزونيتين الثانية والثالثة على حمض أميني حامضي (Asp61) أساسي في وظيفة الأسطوانة C10 في إدخال البروتونات H^+ نحو الداخل.



شكل 5. نموذج جزيئي شريطي لتحت الوحدة C يظهر عليها موقع الحمض الأميني Asp61

كما يحتوي الجزء Fo تحت الوحدة a التي تضم قناة يتم منها دخول البروتونات H^+ من خارج الميتوكوندريا مرورا بالفراغ بين الغشائين إلى المادة الأساسية. تتميز هذه القناة عن غيرها من القنوات الغشائية بأنها مكونة من نصفين غير متصلين. نصف قناة أولى مفتوحة نحو الفراغ بين الغشائين ونصف قناة ثانية مفتوحة نحو المادة الأساسية لميتوكوندريا. النصف الأول من القناة يسمح بدخول H^+ من الفراغ بين الغشائين ويتوقف الدخول عند منتصف القناة حيث يتثبت البروتون على مجموعة -COO في جذر الحمض الأميني Asp61 التابع لتحت الوحدة C.



شكل 6. رسم تخطيط يوضح آلية دخول البروتونات عبر نصفي القناتين في تحت الوحدة a ودوران الأسطوانة C10 .

لماذا تكتسب مجموعة -COO في جذر Asp61 البروتون H^+؟

لأن نصف القناة الأولى تكون متصلة بالفراغ بين الغشائين الذي يحتوي على تركيز عالٍ من البروتونات التي تم إخراجها أثناء انتقال الكترونات في السلسلة التنفسية (وسط حامضي). يعني ذلك أن الحمض الأميني يسلك في هذه الحالة سلوك القاعدة، ويكتسب البروتون (الأحماض الأمينية هي مركبات أمفوتيرية).

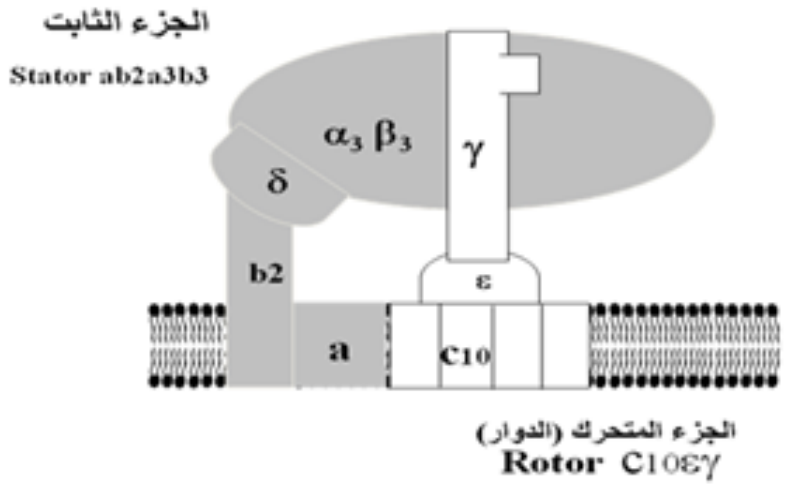
عند اكتساب البروتون من قِبل جذر Asp61 لتحت الوحدة C الأولى تدور الأسطوانة C10 بمقدار 10/1 من الدائرة. يصبح الحمض الأميني Asp61 لتحت وحدة C الثانية في المكان المناسب لاستقبال البروتون الثاني الذي يدخل عبر نصف القناة الأولى، ثم يتكرر الدوران. ويستمر دخول البروتونات عبر نصف القناة التابعة لتحت الوحدة a، وتستمر معها حركة الأسطوانة C10 حركة دورانية.

عند وصول تحت الوحدة C الأولى التي اكتسبت البروتون الأول إلى نصف القناة الثانية -التي تكون مفتوحة نحو الداخل (المادة الأساسية)- يتحرر البروتون. يكون تركيز البروتونات في المادة الأساسية منخفضا (وسط قاعدي) مما يجعل الحمض الأميني Asp61 يسلك سلوك الحمض، ويقوم بتحرير البروتون الذي اكتسبه نحو الداخل من الجذر ، وتتحول المجموعة الكربوكسيلية في الجذر من COOH إلى -COO.

بهذه الطريقة، يتم دخول البروتونات عبر نصف القناتين التابعتين لتحت الوحدة a، وتتم حركة الأسطوانة C10 في حركة دائرية. لكن دور الإنزيم الأساسي الذي تمت الإشارة إليه سابقا هو تركيب جزيئات "أي تي بي" والتي تمثل الطاقة القابلة للاستعمال عند معظم الكائنات الحية.

فكيف يساهم دخول البروتونات وحركة جزء من الإنزيم (الأسطوانة C10) في تحفيز الإنزيم لتركيب الـ "أي تي بي"؟

يمكن تقسيم مكونات الإنزيم المصنع لل "أي تي بي" حسب الحركة إلى جزئين: جزء ثابت Stator وجزء متحرك Rotor. يضم الجزء الثابت 10 تحت وحدات $(ab2\delta\alpha3\beta3)$ ويضم الجزء المتحرك 12 تحت وحدة $(C10\varepsilon\gamma)$.

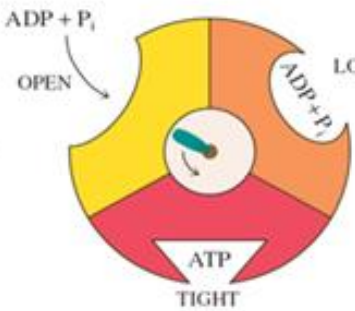


شكل 7. رسم تخطيطي يوضح الجزء الثابت والمتحرك من إنزيم ATP Synthase .

آلية عمل الإنزيم المصنع لل "أي تي بي"

أُقترحت الآلية من قِبل العالم بول بوير، وترتكز على وجود 3 مواقع فعالة في الجزء F1، تأخذ هذه المواقع 3 حالات مختلفة، يرمز لها بالأحرف L (ضعيفة الارتباط Loose) و T (شديدة الارتباط Tight) و O (مفتوحة Open). تأخذ كل وحدة من الوحدات الثلاث إحدى هذه الحالات عند أي وقت. تتحول تحت الوحدات من حالة إلى أخرى بصورة متتابعة. وتتميز كل حالة بما يلي:

- الحالة L: يرتبط بها ADP و Pi بطريقة ضعيفة.
- الحالة T: تتميز بارتباط شديد مما يؤدي إلى تصنيع الـ"أي تي بي".
- الحالة O: مفتوحة لتحرير جزيئة الـ"أي تي بي"المتكونة.

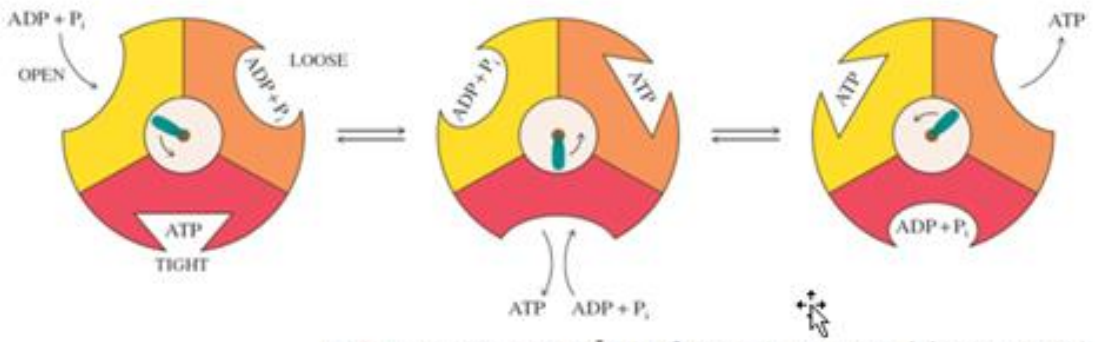


شكل 8. رسم تخطيطي يوضح الأشكال الثلاثة للمواقع الفعالة في الإنزيم.

كيف تعمل المواقع الفعالة في الجزء F1 للإنزيم؟
كل موقع من المواقع الثلاثة يأخذ أحد الأشكال الثلاثة

في كل ثلث دورة (120 °) يتغير كل موقع من شكل إلى شكل آخر بحيث يتغير الموقع من O إلى L، ثم إلى T ، ويعود مرة أخرى إلىO بعد دورة كاملة (360°).

للتبسيط يتم تمثيل الجزء $\alpha 3\beta 3\gamma$ بشكل تخطيطي بسيط يضم 3 أجزاء يتكون كل جزء من تحت وحدة α و β ، ويحتوي كل جزء على موقع فعال بالإضافة إلى محور وسطي γ يدور في المركز . المواقع الثلاثة ذات بنيات (أشكال) مختلفة : مفتوح O ، نصف مفتوح (ارتباط ضعيف) L ، مغلق (ارتباط قوي) T.

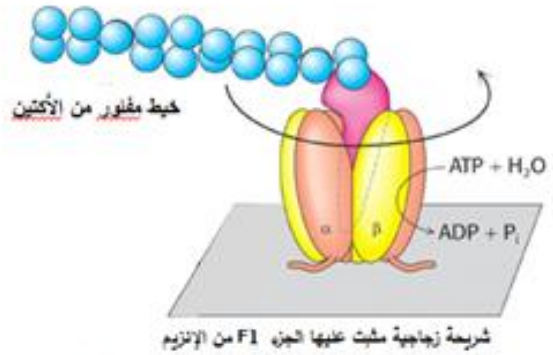


شكل 9. رسم تخطيطي يوضح تغير شكل المواقع الفعالة عند دوران تحت الوحدة غاما

إثبات دور الإنزيم كمحرك جزيئي

لم يصدق المختصون في البداية فكرة دوران الإنزيم، ولذلك عمل الكثير من الباحثين على محاولة إثبات الحركة تجريبيا، ومن بين الأدلة التجريبية على الحركة ما يلي:

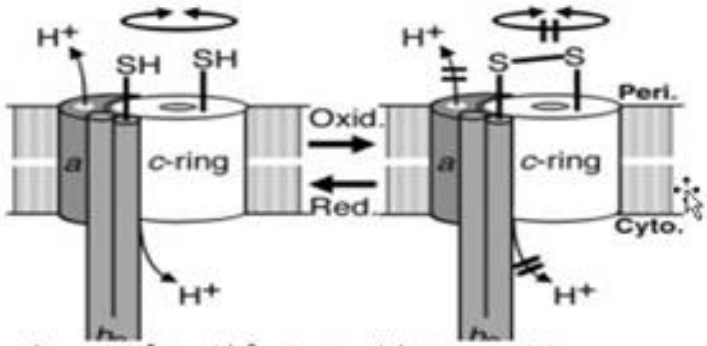
تم تأكيد الحركة من قِبل علماء يابانيين قاموا باستخلاص الجزء F1 وربطه بسطح زجاجي، ثم ربط خيط من الأكتين المفلور بالمحور الوسطي γ . وقد تمت مشاهدة عملية الدوران وتصويرها مباشرة بواسطة كاميرا خاصة.



شكل 10. رسم تخطيطي يوضح تجربة تصوير حركة الإنزيم

كما تم إثبات دور الحركة في عمل الإنزيم (تركيب الـ "أي تي بي") عن طريق منع الحركة وملاحظة هل يتركب الـ"أي تي بي" أم لا؟

تم ذلك عن طريق تكوين جسور كبريتية بين الأسطوانة المتحركة C10 وتحت الوحدة الثابتة b2 لمنع دوران الأسطوانة. ومن ثمّ لوحظ أن منع الحركة يؤدي إلى عدم تركيب جزيئات الـ "أي تي بي".



شكل 11. رسم تخطيطي يوضح تجربة إثبات حركة الإنزيم عن طريق تثبيت حركة الأسطوانة C10 بواسطة جسور كبريتية.

لقد تبين لنا من خلال المقال الأهمية الكبيرة للإنزيم المصنّع لل "أي تي بي" في تركيب الصورة من الطاقة القابلة للاستعمال في معظم أنواع الكائنات الحية. تسمح هذه الطاقة للكائنات بأداء وظائفها المختلفة للمحافظة على حياتها. كما تبين أن الإنزيم يعمل كأنه محرك ميكانيكي عن طريق دوران أجزاء منه حركة دورانية تسمح له بتركيب هذه الجزيئات الطاقوية الهامة. لهذا استحق هذا الإنزيم اسم المحرك الجزيئي molecular motor .

المراجع

1. كاملي ع. : البيوكيمياء الأيضية، دار الوعي، الجزائر، 2012.
2. Voet D., Voet J. G.: Biochemistry, Wiley, John & Sons, 2003.
3. Stryer L., Tymoczko J. L., Berg J. M.: Biochemistry, W. H. Freeman Company, 2002.
4. Karp, G. Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments 5th Edition, Wiley, 2007.
5. Nelson, D. L. & Cox, M. M.: Lehninger Principles of Biochemistry, Freeman 5th ed, 2016.