الخطوة 1: نسخ mRNA من الحمض النووي/ الخطوة الأولى في تخليق البروتين هي نسخ مرنا من جين الحمض النووي في النواة. تهاجر RNAs من النواة إلى السيتوبلازم. قبل بداية تخليق البروتين ، يتم تجميع جميع الأجزاء المكونة في الريبوسوم.

الخطوة 2: البدء: في السيتوبلازم ، يبدأ تخليق البروتين بالفعل بواسطة كودون AUG على مرنا. يشير كودون AUG إلى كل من تفاعل الريبوسوم مع الرنا المرسال وأيضًا الحمض الريبي النووي النقال مع مضادات الأكواخ (UAC). الحمض الريبي النووي النقال الذي يبدأ تخليق البروتين له n-formyl-methionine مرتبط في بدائيات النوى. مجموعة فورميل هي حمض الفورميك الذي تم تحويله إلى أميد باستخدام مجموعة -NH2 على الميثيونين. في المقابل ، في تخليق البروتين حقيقيات النواة ، يحمل الحمض الريبي النووي النقال البادئ الميثيونين المنتظم ، ومجموعة فورميل غير موجودة. هذا الاختلاف هو واحد من الفروق بين بدء الترجمة بدائية النواة والترجمة حقيقية النواة.

Biochemistry
Third grade
Assist.Prof.Dr. Zainab Adnan Hatem
Lec(5)

Proteins

الخطوة التالية هي أن يقترب tRNA الثاني من mRNA (الكودون - CCG) (هذا مثال). هذا هو رمز البرولين. الكودون المضاد للحمض الريبي النووي النقال البرولين الذي يقرأ هذا هو GGC. تتمثل العملية النهائية في بدء نمو سلسلة الببتيد عن طريق ربط أمين البرولين بمجموعة حمض الكربوكسيل من الميثينون (ميت) من أجل إطالة الببتيد

Protein Synthesis

STEP 1: Transcription of mRNA from a DNA

The first step in protein synthesis is the transcription of mRNA from a DNA gene in the nucleus. The RNAs migrate from the nucleus into the cytoplasm. Prior to the beginning of the protein synthesis, all of the component parts are assembled in the ribosome.

STEP 2: Initiation:

In the cytoplasm, protein synthesis is actually initiated by the AUG codon on mRNA. The AUG codon signals both the interaction of the ribosome with mRNA and also the tRNA with the anticodons (UAC). The tRNA which initiates the protein synthesis has N-formyl-methionine attached in prokaryotes . The formyl group is really formic acid converted to an amide using the $-NH_2$ group on methionine. In contrast, in eukaryotic protein synthesis, the initiator tRNA carries regular methionine, and the formyl group is not present. This difference is one of the distinctions between prokaryotic and eukaryotic translation initiation.

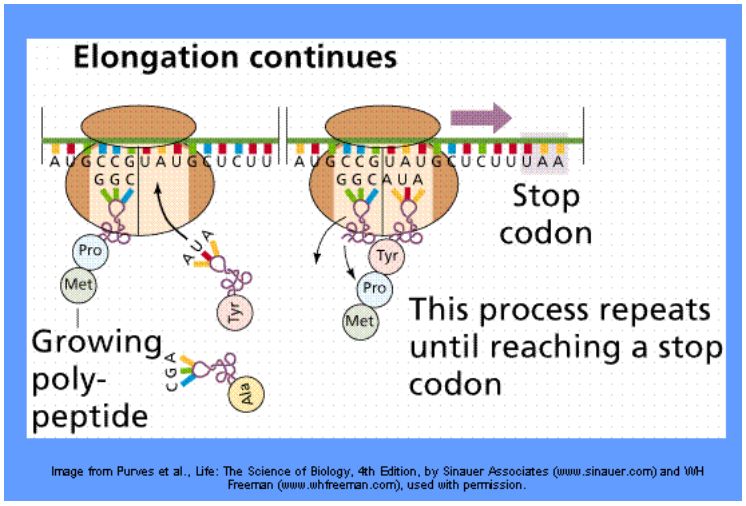
The next step is for a second tRNA to approach the mRNA (codon - CCG)(**this is an example**) . This is the code for proline. The anticodon of the proline tRNA which reads this is GGC. The final process is to start growing peptide chain by having amine of proline to bond to the carboxyl acid group of methinone (met) in order to elongate the peptide

STEP 3: Elongation:

Elongation of the peptide begins as various tRNA's read the next codon. In the example on the left the next tRNA to read the mRNA is tyrosine. When the correct match with the anticodons of a tRNA has been found, the tyrosine forms a peptide bond with the growing peptide chain . The proline is now hydrolyzed from the tRNA. The proline tRNA now moves away from the ribosome and back into the cytoplasm to reattach another proline amino acid.

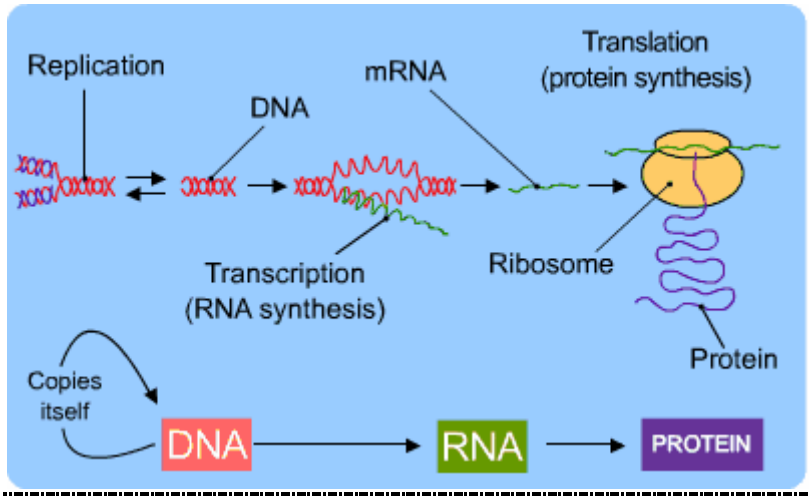
تبدأالخطوة 3: الاستطالة: استطالة الببتيد عندما تقرأ مختلف الحمض الريبي النووي النقال الكودون التالي. في المثال الموجود على اليسار، الحمض الريبي النووي النقال التالي لقراءة mRNA هو التيروزين. عندما يتم العثور على التطابق الصحيح مع مضادات الكودونات في الحمض الريبي النووي النقال، يشكل التيروزين رابطة ببتيدية مع سلسلة الببتيد المتنامية. يتم الآن تحلل البرولين من الحمض النووي الريبي (tRNA). يتحرك الآن الحمض الريبي النووي النقال البرولين بعيدًا عن الريبوسوم ويعود إلى السيتوبلازم لإعادة ربط حمض أميني برولين آخر.

عندالخطوة 4: الإنهاء: الوصول إلى إشارة التوقف على mRNA، يتم إنهاء تخليق البروتين. يتم تحلل الحمض الأميني الأخير من الحمض النووي الريبي (tRNA) الخاص به. تترك السلسلة الببتيدية الريبوسوم. يتم أيضًا تحلل N-formyl-methionine الذي تم استخدامه لبدء تخليق البروتين من الببتيد المكتمل في هذا الوقت (في بدائيات النوى). أصبح الريبوسوم الآن جاهزًا لتكرار عملية التوليف عدة مرات.



Step 4: Termination:

When the stop signal on mRNA is reached, the protein synthesis is terminated. The last amino acid is hydrolyzed from its tRNA. The peptide chain leaves the ribosome. The N-formyl-methionine that was used to initiate the protein synthesis is also hydrolyzed from the completed peptide at this time(in Procaryotic). The ribosome is now ready to repeat the synthesis several more times.



Structure-Function Relationship

The functions of proteins are maintained because of their ability to recognize and interact with a variety of molecules. The three dimensional structural conformation provides and maintains the functional characteristics. The three dimensional structure, in turn, is dependent on the primary structure. So, any difference in the primary structure may produce a protein which cannot serve its function. To illustrate the structure-function relationship, the following three proteins are considered; each belongs to a different class in the functional classification.

العلاقة بين الهيكل والوظيفة:

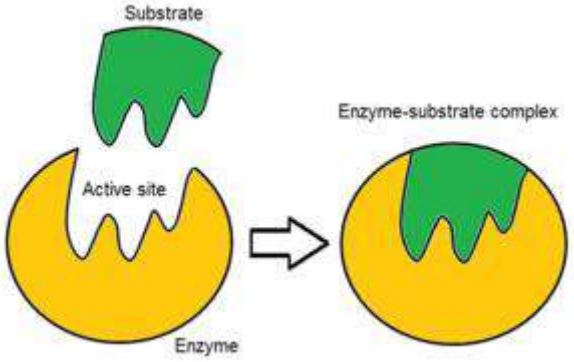
يتم الحفاظ على وظائف البروتينات بسبب قدرتها على التعرف على مجموعة متنوعة من الجزيئات والتفاعل معها. يوفر التشكل الهيكلي ثلاثي الأبعاد الخصائص الوظيفية ويحافظ عليها. والبنية ثلاثية الأبعاد، بدورها، تعتمد على البنية الأولية. لذا فإن أي اختلاف في البنية الأولية قد ينتج بروتينًا لا يمكنه أداء وظيفته. لتوضيح العلاقة بين الهيكل والوظيفة، يتم النظر في البروتينات الثلاثة التالية؛ ينتمي كل منها إلى فئة مختلفة في التصنيف الوظيفي

الإنزيمات: الخطوة الأولى في التحفيز الأنزيمي هي ربط الإنزيم بالركيزة. وهذا بدوره يعتمد على التشكل الهيكلي للموقع النشط للإنزيم، والذي يتم توجيهه بدقة لربط الركيزة.

البروتينات الناقلة: الهيموجلوبين، ناقل الأكسجين، هو بروتين رباعي القسيمات (alpha2، beta2)، حيث يحتوي كل مونومر على وحدة الهيم. ربط الأكسجين بهيم واحد يسهل ربط الأكسجين بوحدات فرعية أخرى. يؤدي ربط H+ وCO2 إلى تعزيز إطلاق O2 من الهيموجلوبين.

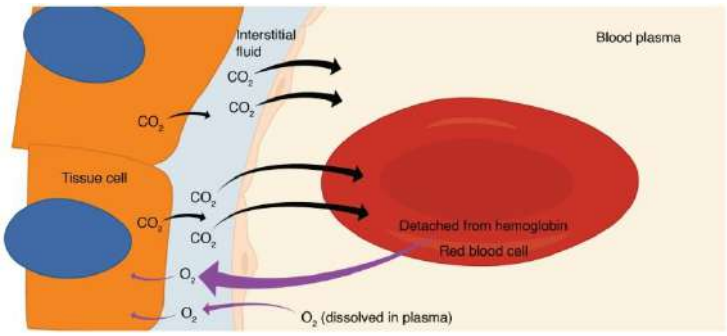
Enzymes: The first step in enzymatic catalysis is the binding of the enzyme to the substrate. This, in turn, depends on the structural conformation of the active site of the enzyme, which is precisely oriented for substrate binding.

الحمض الأميني الوحيد الذي يمكن أن يتناسب مع الحلزون الثلاثي هو الجلايسين بسبب صغر حجمه ومرونته. في حالة نقص فيتامين C، يؤدي فشل عملية الهيدروكسيل للبرولين/الليسين إلى تقليل الرابطة الهيدروجينية وما يترتب على ذلك من ضعف الكولاجين.



البروتينات الهيكلية: الكولاجين هو البروتين الأكثر وفرة في الثدييات وهو المكون الليفي الرئيسي للجلد والعظام والأوتار والغضاريف والأسنان. يشكل الكولاجين كابلاً حلزونياً فائقاً حيث تلتف سلاسل البوليببتيد الثلاثة حول نفسها. في الكولاجين، كل بقايا ثالثة هي جليكاين.

Transport proteins: Hemoglobin, the transporter of oxygen is a tetrameric protein (alpha2, beta2), with each monomer having a heme unit. Binding of oxygen to one heme facilitates oxygen binding by other subunits. Binding of H+ and CO2 promotes release of O2 from hemoglobin.



Structural proteins: Collagen is the most abundant protein in mammals and is the main fibrous component of skin, bone, tendon, cartilage and teeth. Collagen forms a superhelical cable where the 3 polypeptide chains are wound around itself. In collagen, every 3rd residue is a glycine. The only amino acid that can fit into the triple stranded helix is glycine because of its small size and flexibility. In vitamin C deficiency, failure of hydroxylation of proline/lysine leads to reduced hydrogen bonding and consequent weakness of collagen.

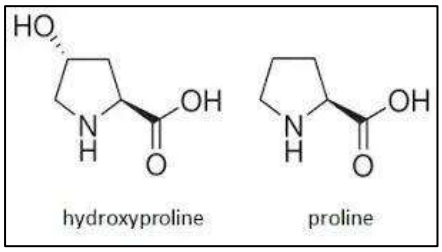
Note for you: Vit. C and hydroxylation: Ascorbate (the active form) promotes hydroxylation of proline and lysine after their incorporation into collagen.
The hydroxylation of proline and lysine residues on collagen enhance the stability of the triple helix and influence on collagen fibril formation. Proline hydroxylation may regulate the flexibility of collagen molecules and make functional sites available for interacting proteins and receptors.

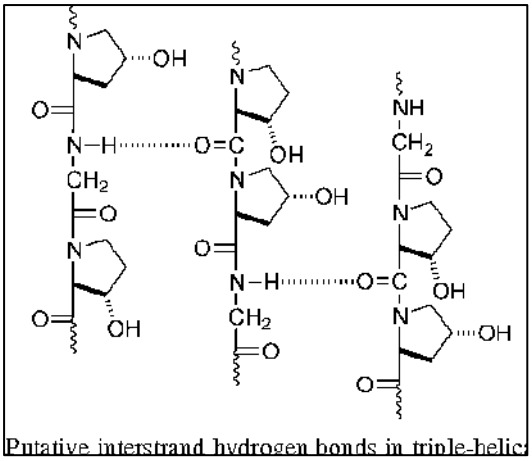
ملاحظة لك: فيتامين. C والهيدروكسيل: يعزز الأسكوربات (الشكل النشط) الهيدروكسيل من البرولين والليسين بعد دمجهما في الكولاجين.
إن الهيدروكسيل لبقايا البرولين والليسين على الكولاجين يعزز استقرار الحلزون الثلاثي ويؤثر على تكوين ألياف الكولاجين.
قد ينظم هيدروكسيل البرولين مرونة جزيئات الكولاجين ويجعل المواقع الوظيفية متاحة للبروتينات والمستقبلات المتفاعلة.

البروتين في التغذية

1. من بين الأحماض الأمينية العشرين التي يحتاجها جسم الإنسان، هناك 8 أحماض أساسية لأن الجسم لا يستطيع تصنيعها بكميات تتوافق مع احتياجاته وبالتالي يجب الحصول عليها من مصادر غذائية.

• الأحماض الأمينية الأساسية هي أريليوسين، آيزوليوسين، ليسين، ميثيونين، فينيل ألانين، ثريونين، فالين، التربتوفان والهستيدين.





2. يقال أن البروتين يكون مكتملًا بيولوجيًا إذا كان يحتوي على جميع الأحماض الأمينية بكميات تتوافق مع احتياجات الإنسان.

• تتفوق البروتينات الحيوانية على البروتينات النباتية لأنها كاملة بيولوجيا.

3. مصادر البروتين

• المصادر الحيوانية: الحليب، اللحوم، البيض، الجبن، الأسماك.

• المصادر النباتية: البقوليات، الحبوب، الفول، المكسرات، الزيوت والبذور.

Protein in nutrition

1. Out of the 20 amino acids needed by the human body, 8 are essential because the body cannot synthesize them in amounts corresponding to the needs and hence must be obtained from dietary sources. • Essential amino acids are- leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, valine, tryptophan and Histidine.

2. A protein is said to be biologically complete if it contains all the amino acids in amounts corresponding to human needs. • Animal proteins are superior to vegetable proteins as they are biologically complete.

3. **Sources of protein** • Animal sources: Milk , meat, eggs, cheese, fish • Vegetable sources: Pulses, cereals, beans, nuts, oils and seeds.

4. **Protein requirements** 1gram of protein per kg of body weight for adult males and females.

5. **Deficiency diseases** • Protein deficiency can occur along with energy deficiency, and it often leads to a condition known as "protein-energy malnutrition" (PEM). Protein-energy malnutrition is a serious condition where a person does not receive an adequate amount of both protein and energy (calories) from their diet.. They can be prevented by health promotion, good diet, immunization, food fortification, early diagnosis and treatment and rehabilitation.

4. متطلبات البروتين 1 جرام من البروتين لكل كجم من وزن الجسم للذكور والإناث البالغين.

5. أمراض النقص: يمكن أن يحدث نقص البروتين جنبًا إلى جنب مع نقص الطاقة، وغالبًا ما يؤدي إلى حالة تعرف باسم "سوء التغذية بالبروتين والطاقة" (PEM). سوء التغذية بالبروتين والطاقة هو حالة خطيرة حيث لا يحصل الشخص على كمية كافية من البروتين والطاقة (السعرات الحرارية) من نظامه الغذائي. ويمكن الوقاية منه عن طريق تعزيز الصحة والنظام الغذائي الجيد والتحصين وإغناء الطعام والتشخيص المبكر والعلاج. وإعادة التأهيل.

تمسخ البروتينات:
1. التسخين الخفيف، المعالجة باليوريا، الساليسيلات، الأشعة السينية، الأشعة فوق البنفسجية، الضغط العالي، الاهتزاز القوي والعوامل الفيزيائية والكيميائية المماثلة تؤدي إلى تمسخ الطبيعة.
2. ستكون هناك تغييرات غير محددة في الهياكل الثانوية والثالثية والرباعية لجزيئات البروتين. لا يتم تغيير الهيكل الأساسي أثناء تمسخ الطبيعة.

Denaturation of proteins

1.Mild heating, treating with urea, salicylate, X-ray, ultraviolet rays, high pressure, vigorous shaking and similar physio-chemical agents produce denaturation.

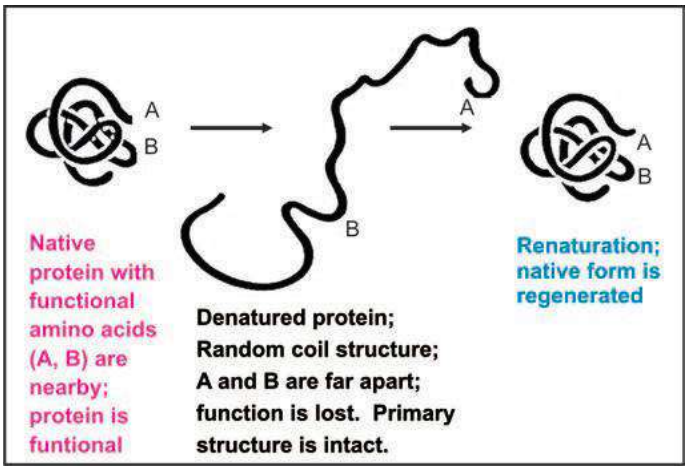
2. There will be non-specific alterations in secondary, tertiary and quaternary structures of protein molecules. Primary structure is not altered during denaturation

4. Native proteins are often resistant to proteolytic enzymes, but denatured proteins will have more exposed sites for enzyme action. Since cooking leads to denaturation of proteins, cooked foods are more easily digested.

5. Denatured proteins are sometimes re-natured when the physical agent is removed. Ribonuclease is a good example for such reversible denaturation. Immunoglobulin chains are dissociated when treated with urea. When the urea is removed by dialysis, the subunits are re-associated and biological activity of immunoglobulin is regained.

6. But many proteins undergo irreversible denaturation. For example, albumin once heated, cannot be renatured by cooling.

5. تتم في بعض الأحيان إعادة طبيعة البروتينات المشوهة عند إزالة العامل الفيزيائي. يعد الريبونوكلياز مثالًا جيدًا لمثل هذا التشوه القابل للعكس. يتم فصل سلاسل الغلوبولين المناعي عند علاجها باليوريا. عندما تتم إزالة اليوريا عن طريق غسيل الكلى، يتم إعادة ربط الوحدات الفرعية ويتم استعادة النشاط البيولوجي للجلوبيولين المناعي.



4. البروتينات الأصلية غالبًا ما تكون مقاومة للإنزيمات المحللة للبروتين، لكن البروتينات المشوهة سيكون لها مواقع أكثر تعرضًا لعمل الإنزيم. نظرًا لأن الطهي يؤدي إلى تمسخ البروتينات، فإن الأطعمة المطبوخة يتم هضمها بسهولة أكبر.

6. لكن العديد من البروتينات تخضع لعملية تمسخ لا رجعة فيها. على سبيل المثال، بمجرد تسخين الألبومين، لا يمكن إعادة طباعته بالتبريد.

Protein sequencing:

☒ Determining the Primary Structure

1. Dansyl chloride is used for estimating the number of polypeptide chains in a protein a follow:

- **N-terminal Labeling with Dansyl Chloride:** Dansyl chloride is used to label the N-terminus of polypeptide chains within the protein. It forms a covalent bond with the amino group at the N-terminus of each chain.

تسلسل البروتين: تحديد الهيكل الأساسي:
1. يستخدم كلوريد الدانسيل لتقدير عدد سلاسل البوليببتيد في البروتين كما يلي:
• وضع العلامات على الطرف N باستخدام كلوريد Dansyl: يستخدم كلوريد Dansyl لتسمية الطرف N لسلاسل البولي ببتيد داخل البروتين. وهو يشكل رابطة تساهمية مع المجموعة الأمينية عند نهاية كل سلسلة.

• التحلل المائي الكامل: يتم بعد ذلك إخضاع سلاسل البولي ببتيد الموسومة للتحلل المائي الكامل. يتضمن ذلك تحطيم البروتين إلى أحماض أمينية فردية. يتم إجراء التحلل المائي عادةً عن طريق الغليان مع حمض الهيدروكلوريك (HCl) عند درجة حرارة عالية (على سبيل المثال، 110 درجة مئوية) لفترة ممتدة (18-36 ساعة).

- Complete Hydrolysis: The tagged polypeptide chains are then subjected to complete hydrolysis. This involves breaking down the protein into individual amino acids. Hydrolysis is typically done by boiling with hydrochloric acid (HCl) at high temperature (e.g., 110°C) for an extended period (18-36 hours).

• تحليل أحماض الدانسيل الأمينية: بعد التحلل المائي، يحتوي الخليط الناتج على مجموعة من الأحماض الأمينية، بما في ذلك الأحماض الأمينية الدانسيلية. يمكن تحليل هذه الأحماض الأمينية باستخدام تقنيات مختلفة، مثل اللوني. يمكن تحديد عدد وطبيعة الأحماض الأمينية الدانسيلية، ويمكن أن توفر هذه المعلومات نظرة ثاقبة حول عدد سلاسل البوليببتيد في البروتين الأصلي. على سبيل المثال، إذا كان هناك سلسلتين مختلفتين من البولي ببتيد في البروتين، فيمكن تحديد نوعين مختلفين من الأحماض الأمينية الدانسيل.

- Analysis of Dansyl Amino Acids: After hydrolysis, the resulting mixture contains a combination of amino acids, including the dansylated amino acids. These amino acids can be analyzed using various techniques, such as chromatography. The number and nature of the dansylated amino acids can be determined, and this information can provide insights into the number of polypeptide chains in the original protein. For example, if there are two different polypeptide chains in a protein, two different dansyl amino acids can be identified.

• تحليل المجموعة النهائية
أولا. تم بالفعل التعرف على الحمض الأميني N-terminal عن طريق المعالجة بكلوريد الدانسيل.
ثانيا. يمكن التعرف على الحمض الأميني للطرف C بواسطة كربوكسي بيبتيداز A وB. تعمل هذه الإنزيمات على وجه التحديد على التحلل المائي وتحرير الحمض الأميني للطرف C من سلسلة البولي ببتيد.
• استمرار عمل الإنزيم من شأنه أن يطلق الأحماض الأمينية بشكل تسلسلي من الطرف C.

☒ End Group Analysis

i. The N-terminal amino acid has already been identified by treatment with dansyl chloride.

ii. The **C-terminal amino acid** may be identified by Carboxypeptidase A and B.

- These enzymes specifically hydrolyze and release the C-terminal amino acid from the polypeptide chain.
- Continued action of the enzyme would release amino acids sequentially from the C-terminal end.

• التحلل المائي الجزئي
بالنسبة للبروتينات ذات السلسلة الطويلة جدًا، يتم تقسيم السلسلة إلى العديد من الببتيدات الصغيرة ذات التسلسلات المتداخلة.
يتم ذلك عن طريق إخضاع سلسلة البولي ببتيد للتحلل المائي بواسطة اثنين أو أكثر من الإنزيمات المختلفة الخاصة بالموقع.
يقوم التربسين بتحليل الروابط الببتيدية التي تتكون من مجموعة ألفا كربوكسيل المكونة من ليسين وأرجينين.
يعمل الكيموتربسين بشكل تفضيلي على الروابط الببتيدية التي تتكون من مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الأمينية Phe أو Tyr أو Trp أو Leu.
يهاجم بروميد السيانوجين (CNBr) الجانب سي من بقايا الميثيونين ويكسر الرابطة الببتيدية.

➢ Partial Hydrolysis

For very long chain proteins, the chain is broken into many small peptides of overlapping sequences. This is done by subjecting the polypeptide chain to hydrolysis by two or more different site specific enzymes.

Trypsin hydrolyses peptide bonds formed by alpha carboxyl group of Lysine and Arginine.

Chymotrypsin preferentially acts on peptide bonds formed by carboxyl group of amino acids Phe, Tyr, Trp, or Leu.

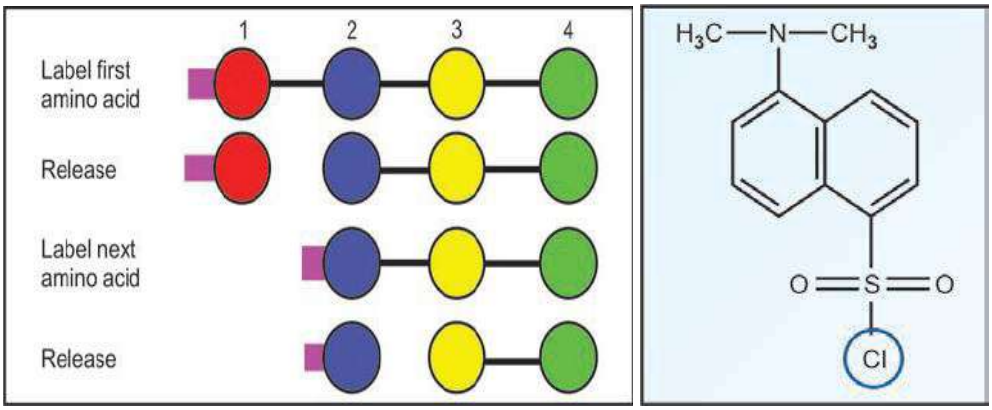
Cyanogen bromide (CNBr) attacks C-side of methionine residue and breaks the peptide bond.

التسلسل

1. يتم بعد ذلك تسلسل سلاسل البولي ببتيد الفردية المنقاة باستخدام تقنية تحلل إدمان.
2. كاشف إدمان هو فينيل إيزوثيوسيانات.
3. يشكل رابطة تساهمية مع الحمض الأميني N- الطرفي لأي سلسلة ببتيد. يمكن التعرف على هذا.
4. سيتفاعل كاشف إدمان بعد ذلك مع الحمض الأميني الثاني الذي يحتوي الآن على مجموعة ألفا أمينية.
5. التحلل مفيد في تسلسل أول 10-50 من الأحماض الأمينية.

➢ Sequencing

1. The purified individual polypeptide chains are then sequenced using **Edman's degradation technique.**
2. Edman's reagent is phenyl-isothiocyanate.
3. It forms a covalent bond to the N-terminal amino acid of any peptide chain. This can be identified.
4. The Edman's reagent would then react with the second amino acid which now has the alpha amino group.
5. The degradation is useful in sequencing first 10-50 amino acids.
6. While Edman degradation is an effective method for sequencing the N-terminal amino acids of a protein, it has limitations. It may not be suitable for very large or complex proteins, as it is a relatively slow and labor-intensive process. Additionally, the technique can be less accurate as the length of the sequence increases. For longer protein sequencing, other methods like mass spectrometry-based techniques are often used.



Steps in Edman's degradation process

6. في حين أن تحلل إدمان هو وسيلة فعالة لتسلسل الأحماض الأمينية الطرفية للبروتين، إلا أن له حدود. قد لا تكون مناسبة للبروتينات الكبيرة أو المعقدة جدًا، لأنها عملية بطيئة وكثيفة العمالة نسبيًا. بالإضافة إلى ذلك، يمكن أن تكون هذه التقنية أقل دقة مع زيادة طول التسلسل. لتسلسل البروتين الأطول، غالبا ما تستخدم أساليب أخرى مثل التقنيات القائمة على قياس الطيف الكتلي.

Methods of protein studying:

1. Protein purification ,the step-by-step process

Protein purification is the processes of isolating a protein of interest from its environment. The protein purification steps include:

طرق دراسة البروتين:

1. تنقية البروتين، عملية خطوة بخطوة

تنقية البروتين هي عمليات عزل البروتين محل الاهتمام من بيئته. تشمل خطوات تنقية البروتين ما يلي:

إعداد عينة
تبدأ العملية بتحضير العينة التي تتكون من خلية الحصاد، وتعطيل الخلايا (في حالة البروتين المستهدف لدينا هو داخل الخلايا)، والتوضيح. يتضمن حصاد الخلايا فصل الخلايا عن وسط الاستزراع، عادةً عن طريق الطرد المركزي أو الترشيح. تعطيل الخلايا، يمكن تحقيقه من خلال منهجيات مختلفة يتم اختياره اعتمادًا على المضيف مثل الطريقة الكيميائية باستخدام تحلل العازلة، والطرق الفيزيائية مثل الصوتنة. التوضيح، وهو أمر ضروري لأن البروتين المراد تنقيته سيتم خلطه مع عناصر أخرى مثل بقايا الغشاء أو العضيات أو الحطام الخلوي أو البروتينات غير القابلة للذوبان. ويتم تحقيق ذلك عن طريق الترشيح أو الطرد المركزي.

✓ Sample preparation

The process starts with the preparation of the sample, which consists of **cell harvesting, cell disruption** (in the case our target protein is intracellular), **and clarification**.

Cell harvesting involves separating the cells from the culture medium, usually by centrifugation or filtration.

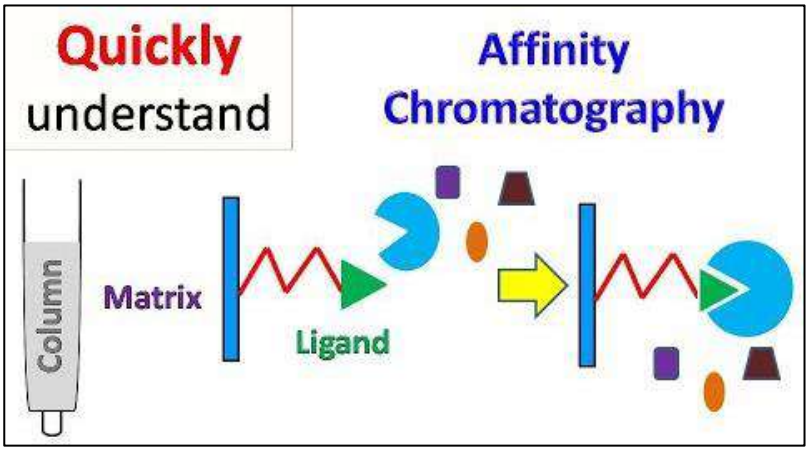
Cell disruption, it can be achieved through different methodologies that will be chosen depending on the host such as chemical method using lysis buffer , physical methods such as sonication.

Clarification, which is needed because the protein to be purified will be mixed with other elements such as membrane remains, organelles, cellular debris or insoluble proteins. This is achieved by filtration or centrifugation.

✓ Recovery or Capture:

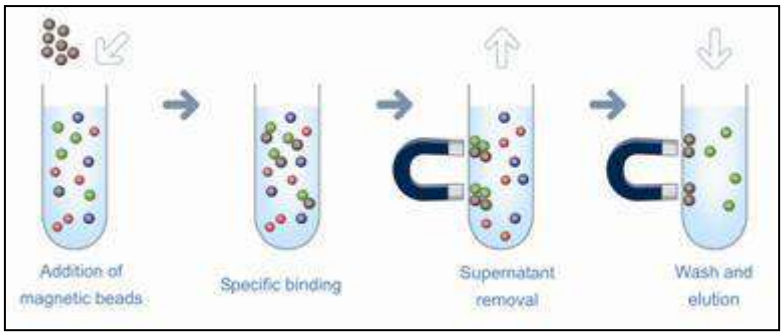
It aims to isolate, concentrate and stabilize the protein of interest**.** Always preserving its functionality, the protein is concentrated and the most important contaminants are eliminated.

Affinity chromatography is, currently, the most common method for purifying recombinant proteins. Affinity chromatography is indeed one of the most commonly used methods for purifying recombinant proteins. This technique takes advantage of the specific binding between a target protein and a ligand immobilized on a chromatography matrix. The ligand is chosen to interact selectively with the recombinant protein of interest.



الاسترداد أو الالتقاط:
ويهدف إلى عزل البروتين المعني وتركيزه واستقراره. يحافظ البروتين دائمًا على وظيفته، حيث يتم تركيزه والتخلص من أهم الملوثات. تعد كروماتوغرافيا التقارب هي الطريقة الأكثر شيوعًا حاليًا لتنقية البروتينات المؤتلفة. يعد كروماتوجرافيا التقارب أحد أكثر الطرق شيوعًا لتنقية البروتينات المؤتلفة. تستفيد هذه التقنية من الارتباط المحدد بين البروتين المستهدف والربيطة المثبتة على مصفوفة كروماتوغرافيا. يتم اختيار يجند للتفاعل بشكل انتقائي مع البروتين المؤتلف محل الاهتمام.

Magnetic bead separation, should also consider , which provides many advantages in regards to chromatography and assumes a general simplification of the process. The magnetic beads are typically functionalized or coated with specific ligands. These ligands are chosen to provide selectivity for the target molecule, whether it's a protein, nucleic acid, or other biomolecule. The choice of ligand depends on the specific application and the type of molecule you want to isolate or purify. In protein purification, magnetic beads can be coated with ligands such as antibodies, antigens, or other affinity molecules that specifically bind to the target protein of interest.

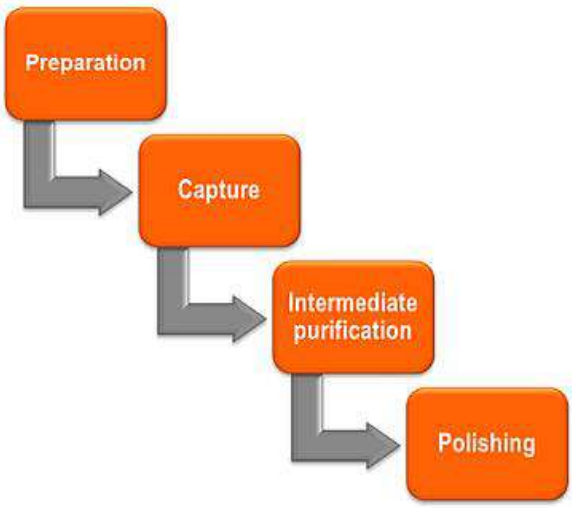


يجب أيضًا مراعاة فصل الخرز المغناطيسي، والذي يوفر العديد من المزايا فيما يتعلق بالكروماتوغرافيا ويفترض تبسيطًا عامًا للعملية. عادةً ما يتم تشغيل الخرز المغناطيسي أو تغليفه بروابط محددة. يتم اختيار هذه الروابط لتوفير انتقائية للجزيء المستهدف، سواء كان بروتينًا أو حمضًا نوويًا أو جزيءًا حيويًا آخر. يعتمد اختيار اللجند على التطبيق المحدد ونوع الجزيء الذي تريد عزله أو تنقيته. في تنقية البروتين، يمكن تغليف الخرز المغناطيسي برباطات مثل الأجسام المضادة، أو المستضدات، أو جزيئات الألفة الأخرى التي ترتبط بشكل خاص بالبروتين المستهدف محل الاهتمام.

✓ Polishing step: refining our results

The last step is **polishing**, although it overlaps a little with the purification and it's not always needed. This step consists of eliminating as much of the impurities as possible, performing more chromatography.

خطوة التلميع: تحسين النتائج الخطوة الأخيرة هي التلميع، على الرغم من أنها تتداخل قليلاً مع عملية التنقية ولا تكون هناك حاجة إليها دائمًا. تتكون هذه الخطوة من إزالة أكبر قدر ممكن من الشوائب، وإجراء المزيد من التحليل اللوني.



2. Cellular localization

a. Knowledge of the subcellular localization of a protein can significantly improve target identification during the drug discovery process. For

example, secreted proteins and plasma membrane proteins are easily accessible by drug molecules due to their localization in the extracellular space or on the cell surface.

b. Protein localization is often linked to the exposure and recognition of specific signal sequences by transport proteins.

c. The appropriate subcellular localization of proteins is crucial because it provides the physiological context for their function.

3. Proteomics and bioinformatics

Proteomics is the study of the entire galaxy of proteins produced by a cell under different conditions.

At a particular time, a gene is "**on**" in a particular cell; but it will be "**off"** in another cell. Expression of proteins during growth and development will be different from the resting cell. Proteins produced by a gastrointestinal cell and a neuronal cell will be entirely different. Many proteins are getting post-translational modification, that too, at different levels at various organs. But genes are the same in all cells at all times. Therefore, study of genes (genomics) will give only a partial picture of what is going on in nature.

2. التوطين الخلوي

أ. معرفة التوطين تحت الخلوي للبروتين يمكن أن تحسن بشكل كبير تحديد الهدف أثناء عملية اكتشاف الدواء. على سبيل المثال، يمكن الوصول بسهولة إلى البروتينات المفرزة وبروتينات الغشاء البلازمي عن طريق جزيئات الدواء بسبب توطينها في الفضاء خارج الخلية أو على سطح الخلية.

ب. غالبًا ما يرتبط توطين البروتين بالتعرض والتعرف على تسلسلات إشارة محددة بواسطة بروتينات النقل.

ج. يعد التوطين المناسب للبروتينات تحت الخلوية أمرًا بالغ الأهمية لأنه يوفر السياق الفسيولوجي لوظيفتها.

3. البروتينات والمعلوماتية الحيوية

علم البروتينات هو دراسة كامل مجرة البروتينات التي تنتجها الخلية في ظل ظروف مختلفة. في وقت معين، يكون الجين "مفعلًا" في خلية معينة؛ ولكن سيكون "إيقاف" في خلية أخرى. سيكون التعبير عن البروتينات أثناء النمو والتطور مختلفًا عن خلية الراحة. ستكون البروتينات التي تنتجها الخلية الهضمية والخلية العصبية مختلفة تمامًا. تحصل العديد من البروتينات على تعديل ما بعد الترجمة، وذلك أيضًا، على مستويات مختلفة في مختلف الأعضاء. لكن الجينات هي نفسها في جميع الخلايا في جميع الأوقات. ولذلك فإن دراسة الجينات (علم الجينوم) لن تعطي سوى صورة جزئية عما يحدث في الطبيعة.