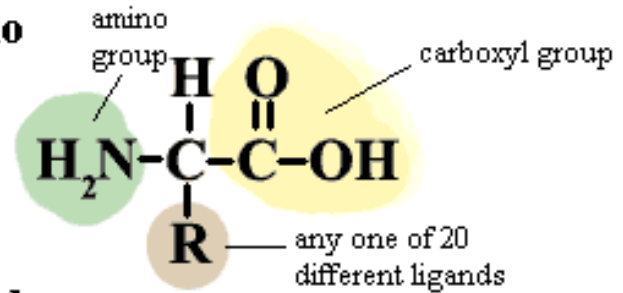
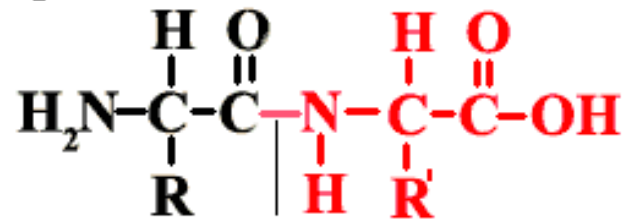


البيبتيدات

Amino Acid



Peptide



peptide bond: carboxyl group of one AA reacts with amino group of next

محتويات المحاضرة

- تكوين الببتيدات
- تكوين الرابطة الببتيدية
- الأحماض الأمينية الطرفية
- مكونات الببتيدات
- تسمية الببتيدات
- الببتيدات الفسيولوجية
- الصفة الحامضية – القاعدية للببتيدات
- نقطة التعادل الكهربائي للببتيدات
- التعرف على تسلسل الببتيدات كيميائياً
- تفاعل سانجر

تكوين البيبتيدات

- إذا ارتبط حامضين أميين فإنه ينتج عنه ثنائي البيبتيد ،
والرابطة التي بين الحمضين الأمينيين هي
الرابطة البيبتيدية

تكوين البيبتيدات

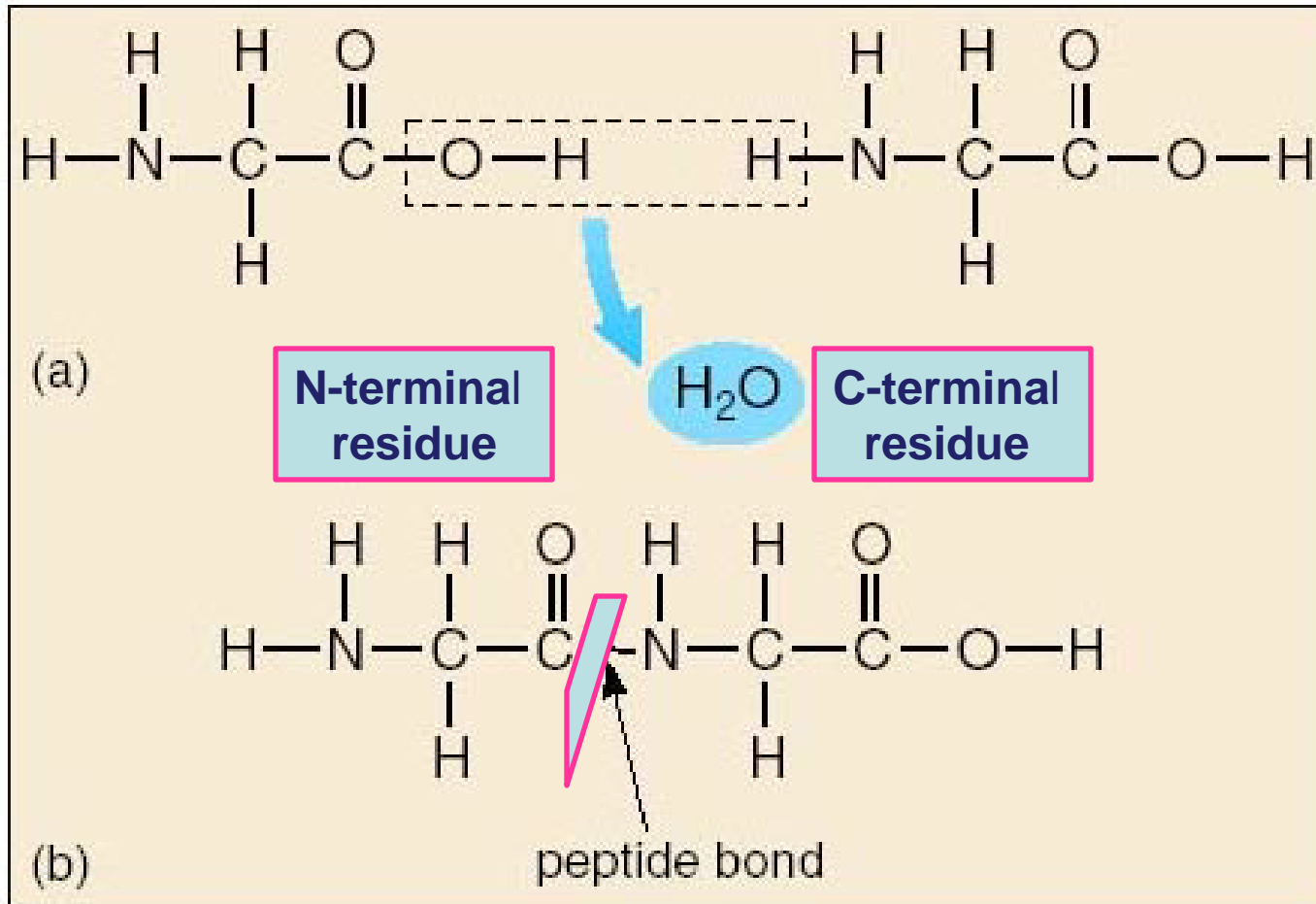
• الرابطة الببتيدية تتكون من

إزاحة جزيء ماء من الحمضين الأمينين:

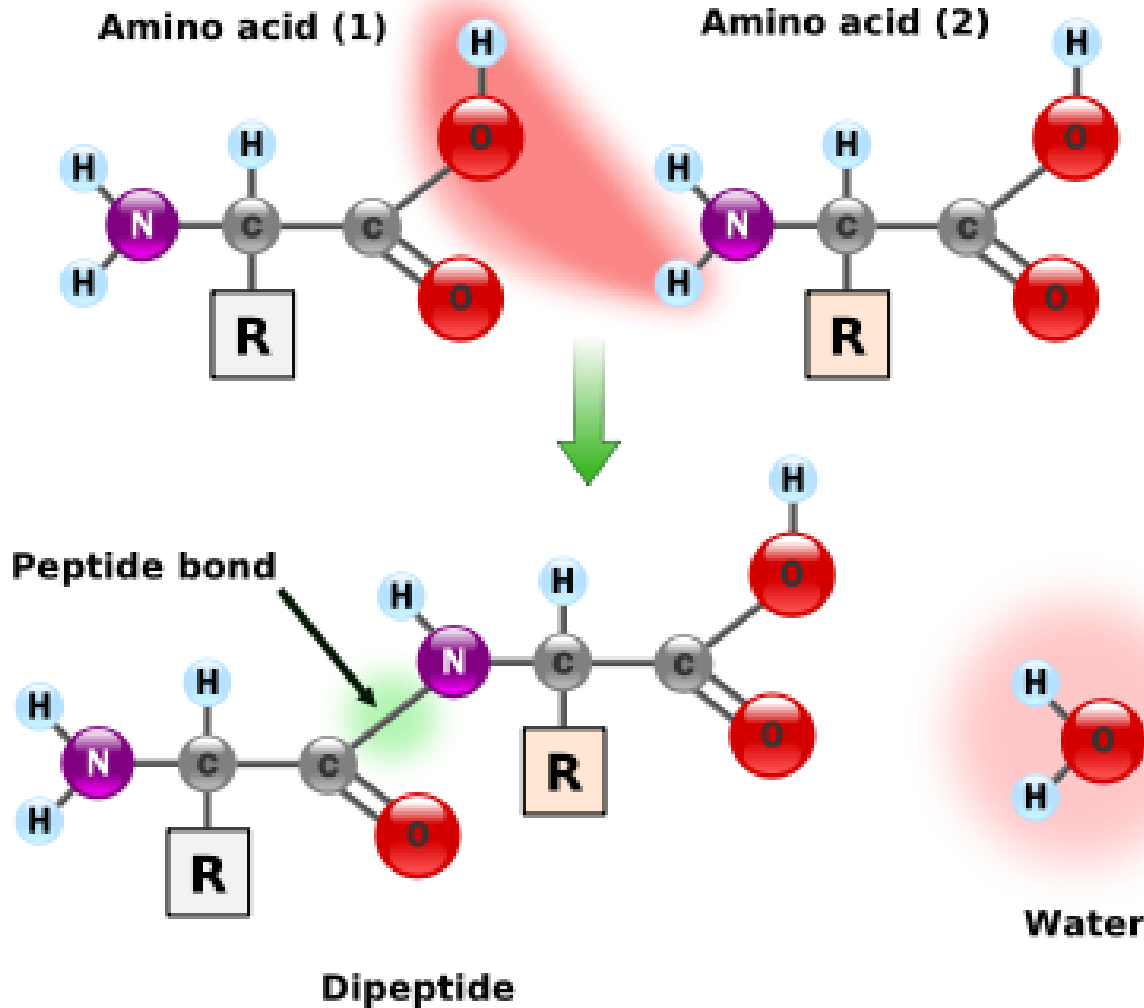
1. OH - من مجموعة الكربوكسيل للحمض الأميني الأول

2. H - من مجموعة الأمين – الألفا – من الحمض الأميني الآخر.

تكوين الرابطة الببتيدية

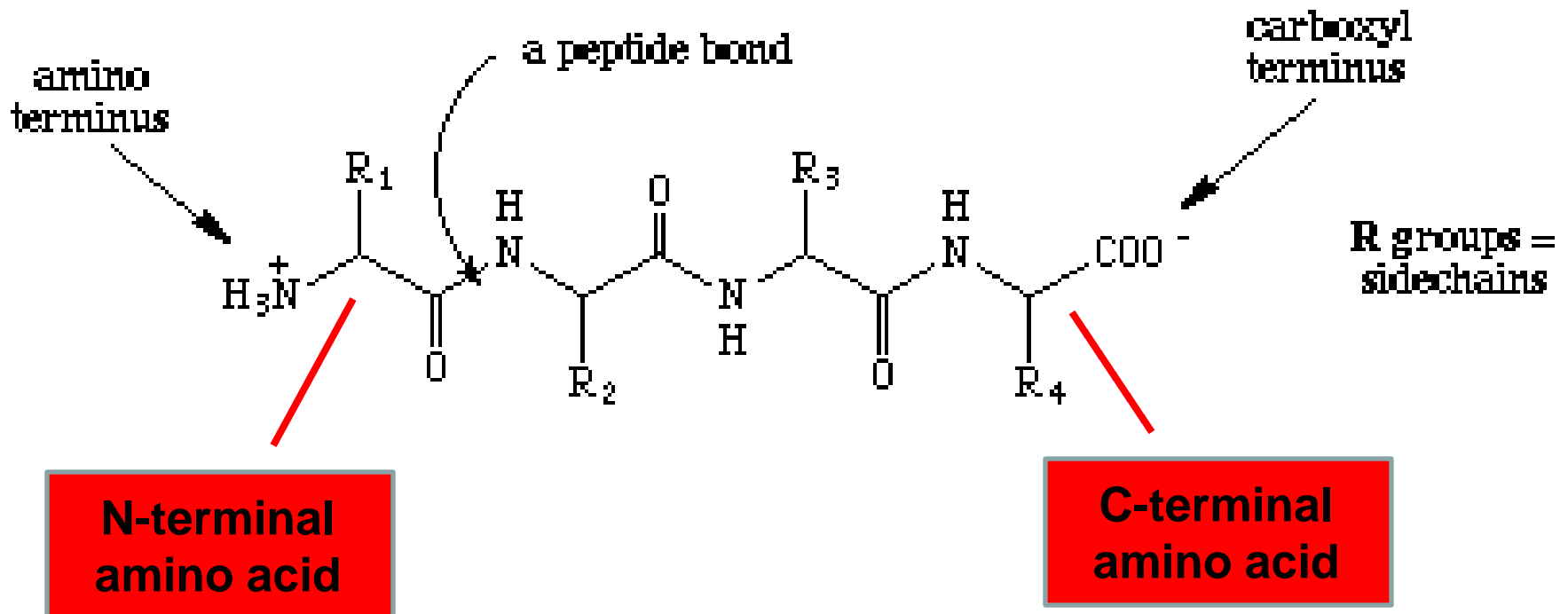


البيبتيدات



حمضين أميين
يتحدان بواسطة
رابطة بيبتيدية
واحدة ويكونان
ثنائي البيبتيد

الأحماض الأمينية الطرفية



مكونات الببتيدات

- وبنفس الطريقة يتم ارتباط 3 أحماض أمينية لتكوين ثلاثي الببتيد

ثلاثي الببتيد

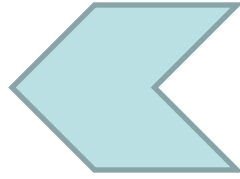
3 أحماض أمينية

رباعي الببتيد

4 أحماض أمينية

خماسي الببتيد

5 أحماض أمينية



- الببتيد الذي يتكون من:

Oligopeptide



2-10 أحماض أمينية

- الببتيد الذي يتكون من:

Polypeptide



أحماض أمينية < 10

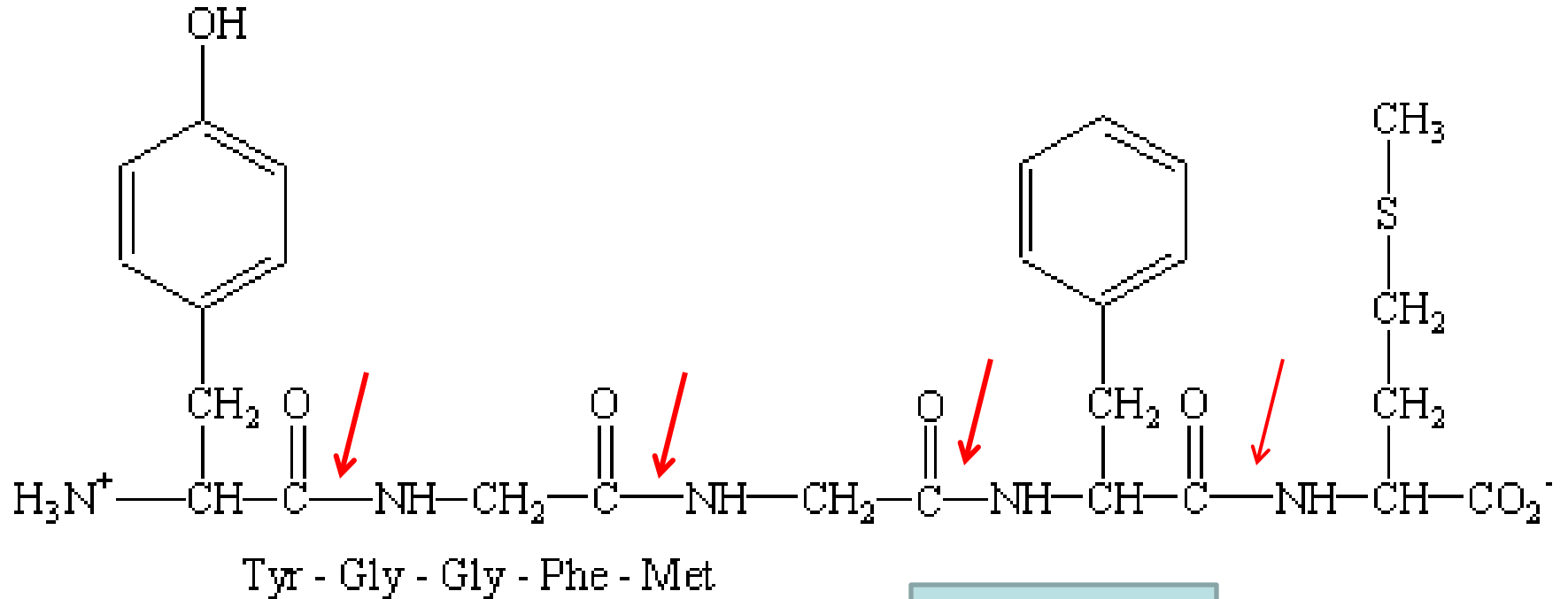
متعددة الببتيد

سلاسل الأحماض الأمينية

- **Dipeptide**: 2 amino acids (aas) joined by 1 peptide bond.
- **Tripeptide**: 3 aas joined by 2 peptide bonds.
- **Tetrapeptide**: 4 aas joined together by 3 peptide bonds.
- **Peptapeptide** and so forth.....
- **Oligopeptide**: Few aas joined together by peptide bonds.
- **Polypeptide**: Many aas joined. Molecular weights generally below 10000.
- **Proteins**: Many aas joined. Generally have high molecular weights.

خماسي البيبتيد (خمس أحماض أمينية)

Pentapeptide

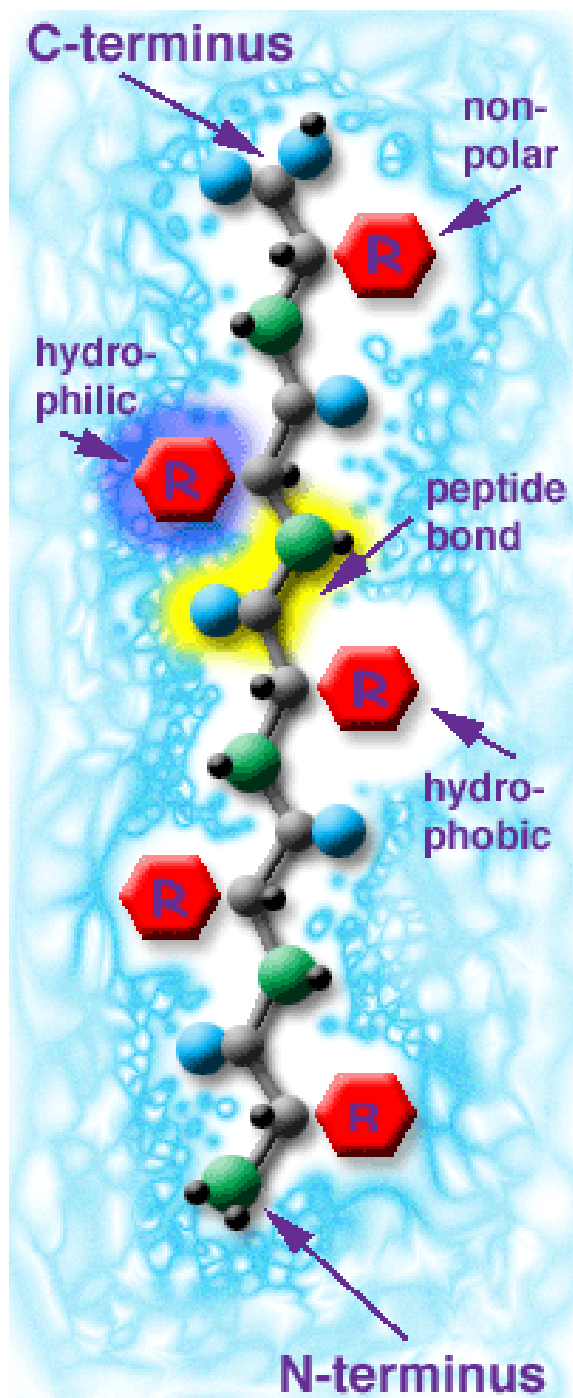


N - terminal
amino acid

روابط بيبتيدية



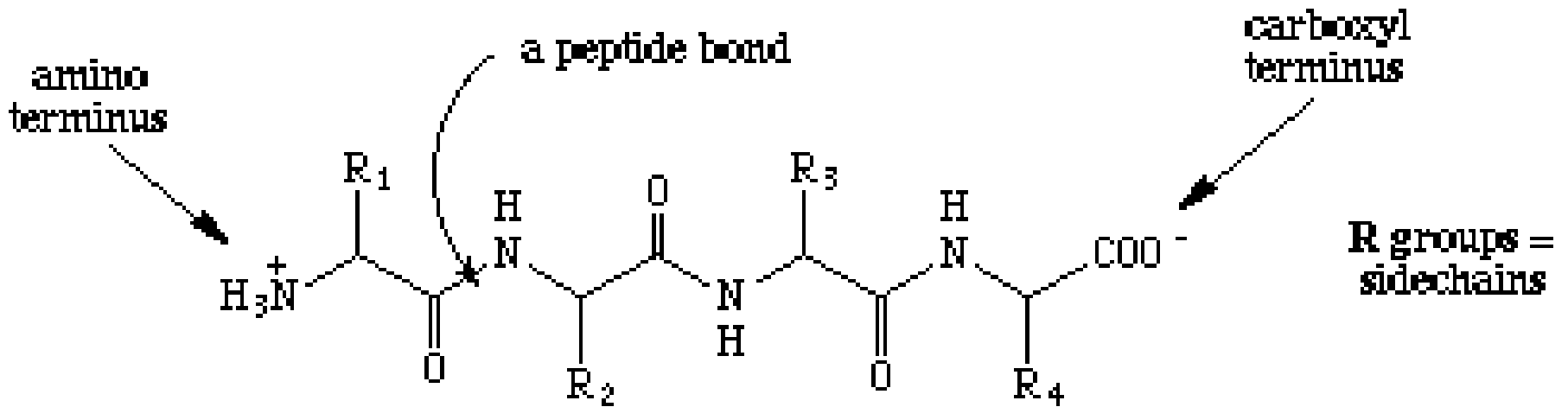
C - terminal
amino acid



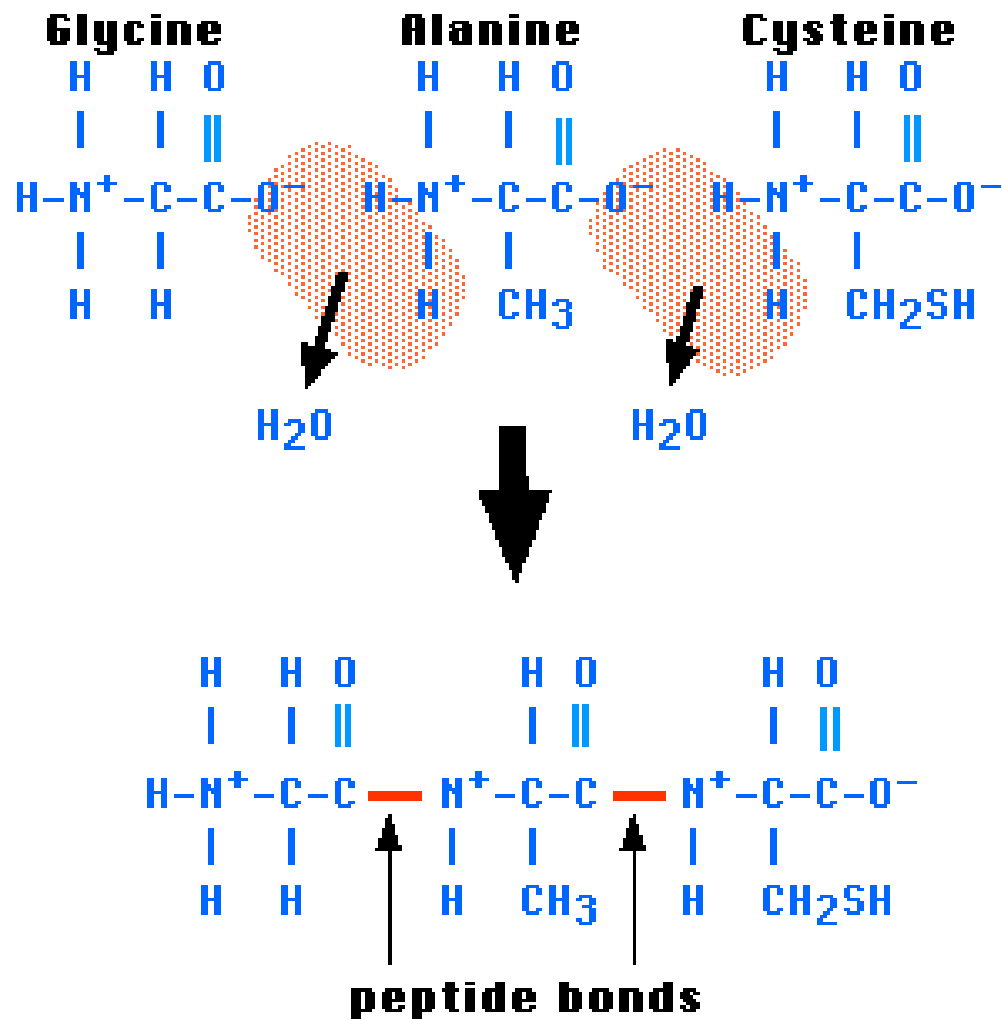
خماسي البيبتيد

Tetrapeptide

رباعي الببتيد

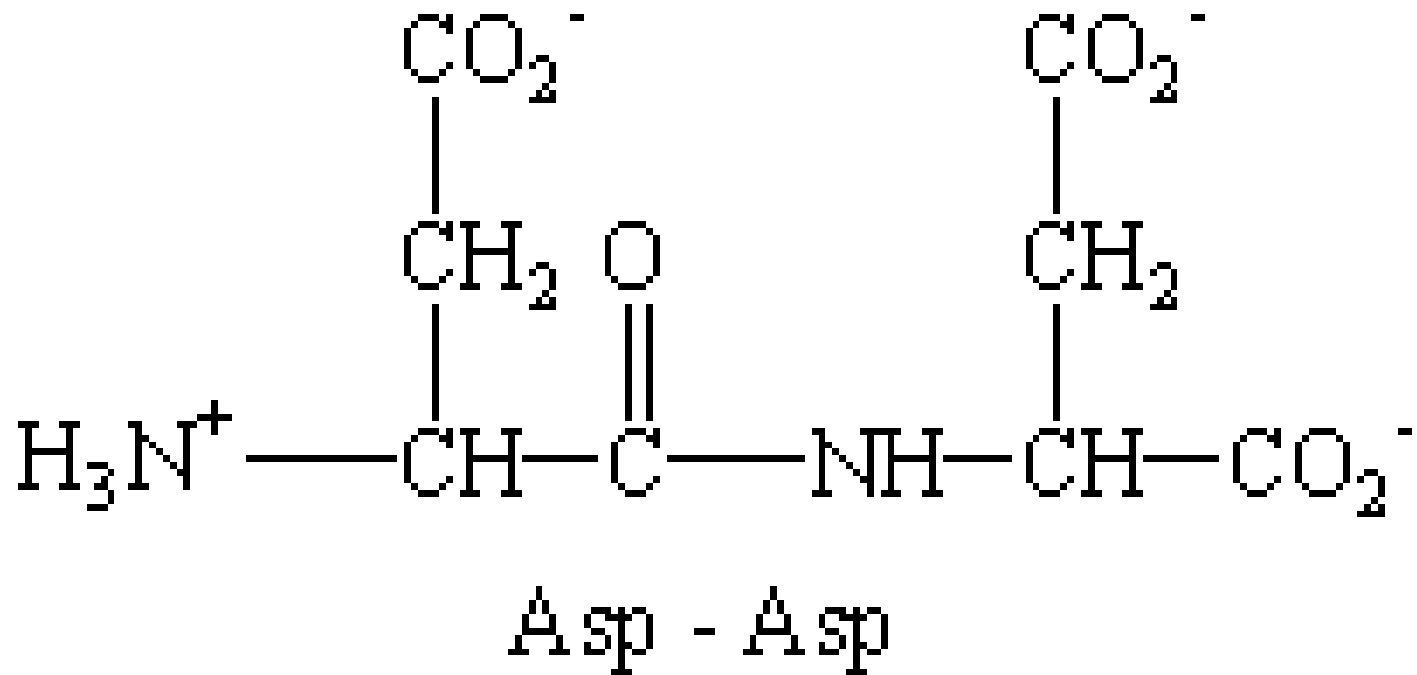


ثلاثي البيبتيد



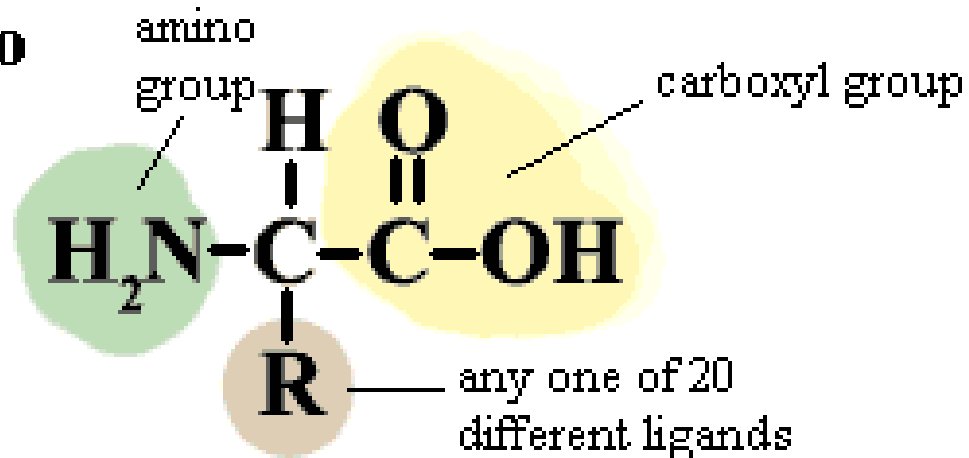
Dipeptide

ثنائي البيبتيد

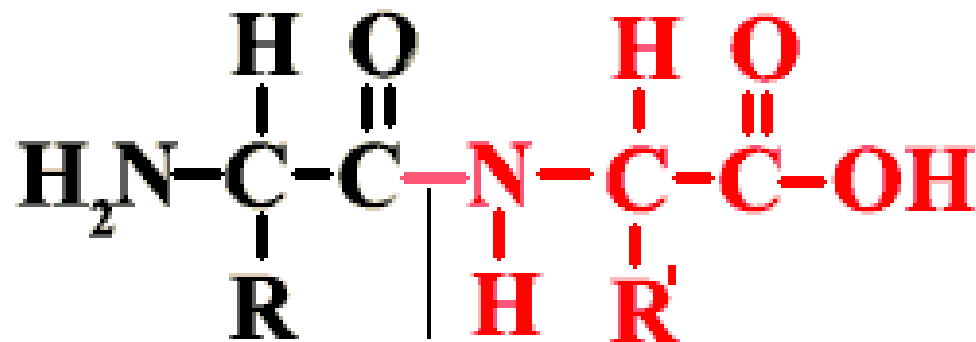


ثنائي البيبتيد

**Amino
Acid**



Peptide



peptide bond: carboxyl group of one AA reacts with amino group of next

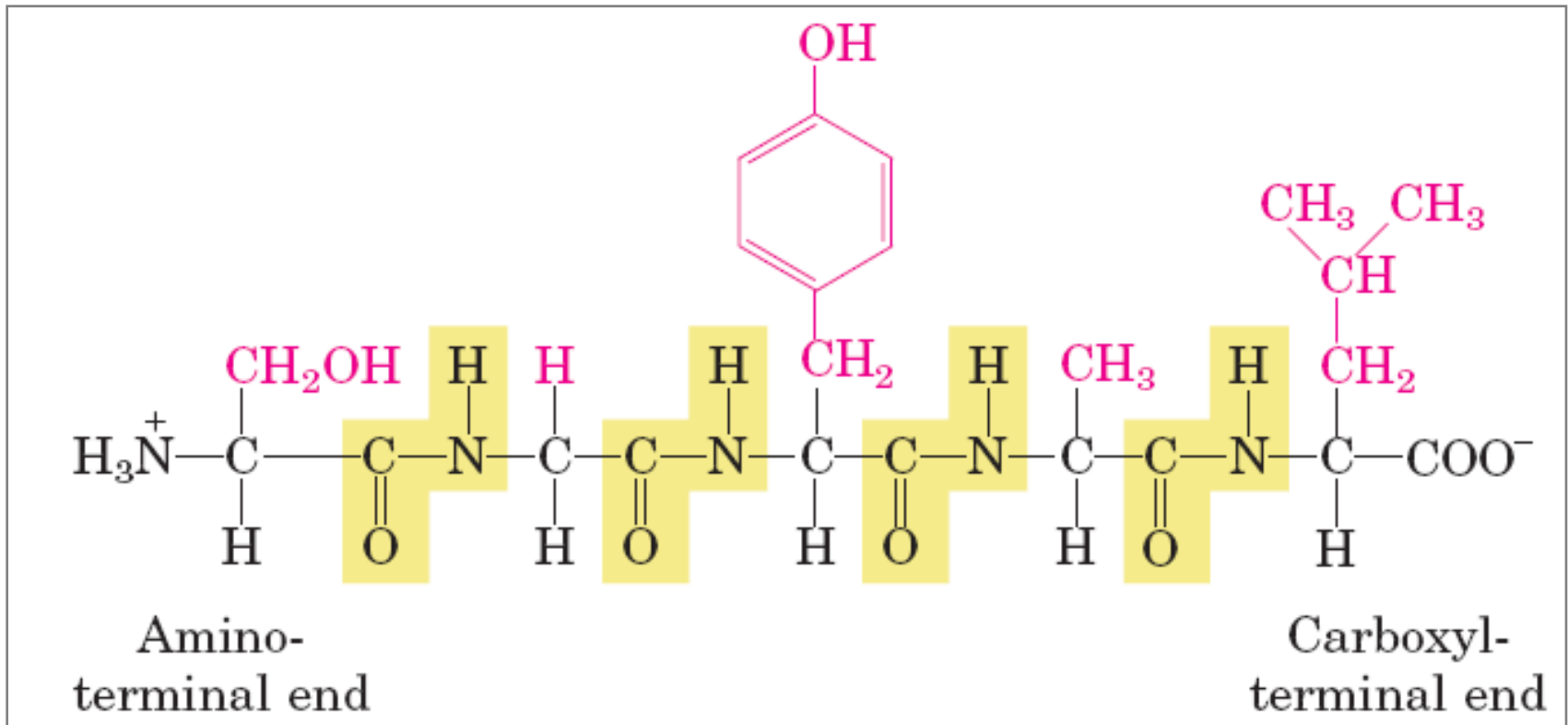
كيف نسمي البيبتيد؟

- البيبتيدات تتكون من الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية و هذا يكون بتسلسل معين، بناءا على هذا الترتيب أو التسلسل نسمي البيبتيد.

- **تسمية البيبتيد تبدأ بتسمية الحمض الأميني الموجود في طرف النهاية الأمينية من البيبتيد (N-terminus).**

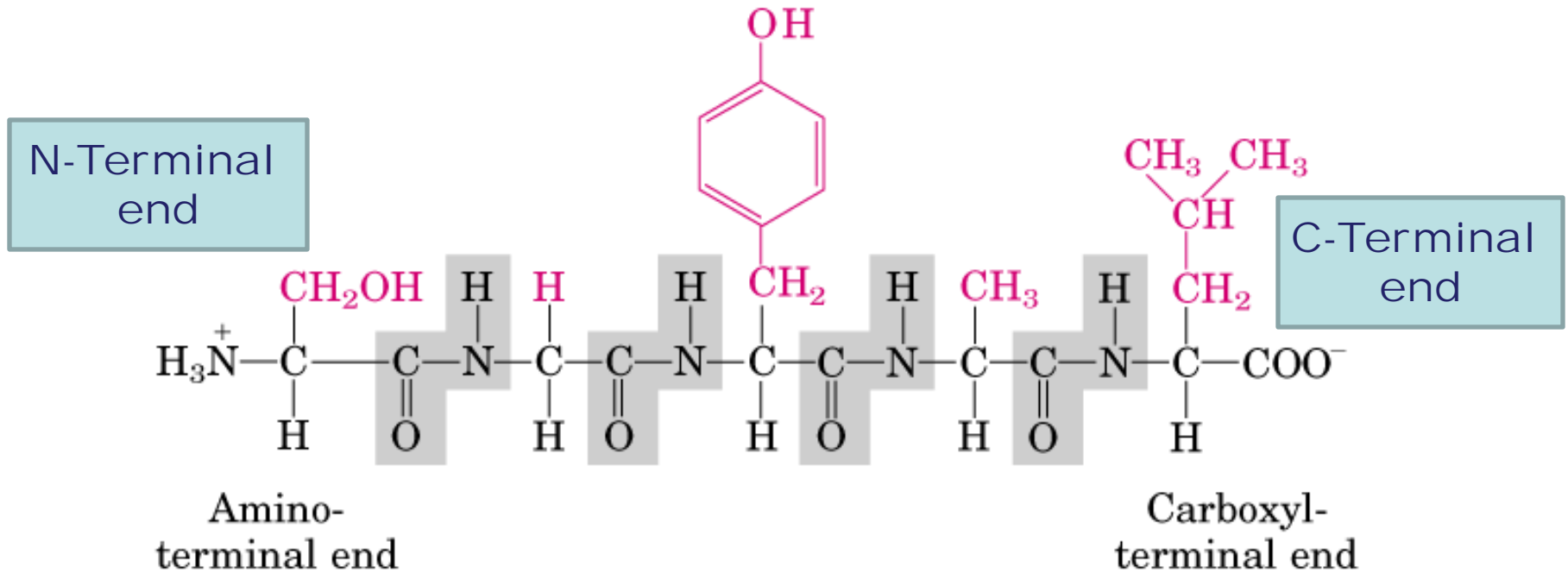
خماسي البيبتيد (خمس أحماض أمينية)

Pentapeptide



The Pentapeptide
serylglycytyrosylalanylleucine
or Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu.

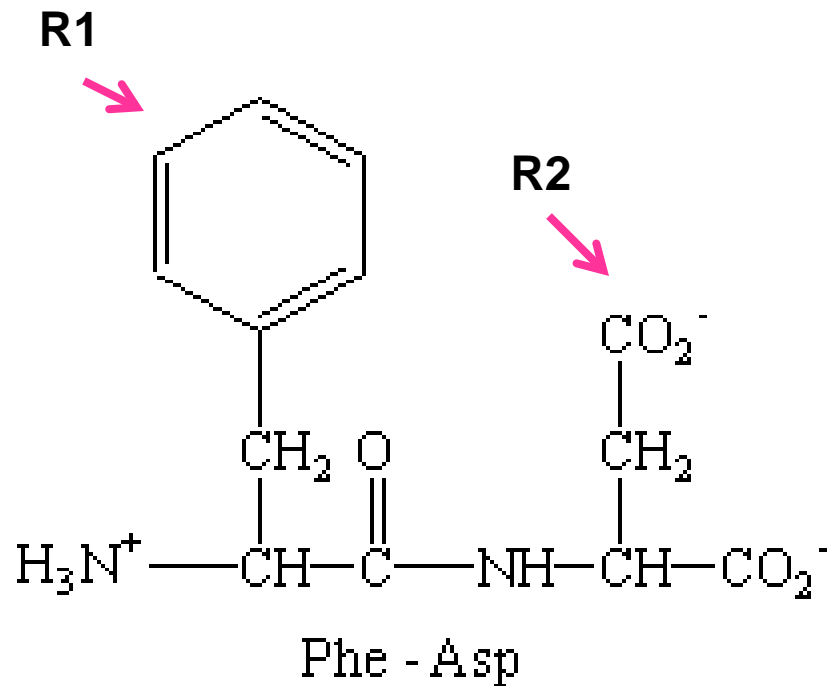
تسمية الببتيدات



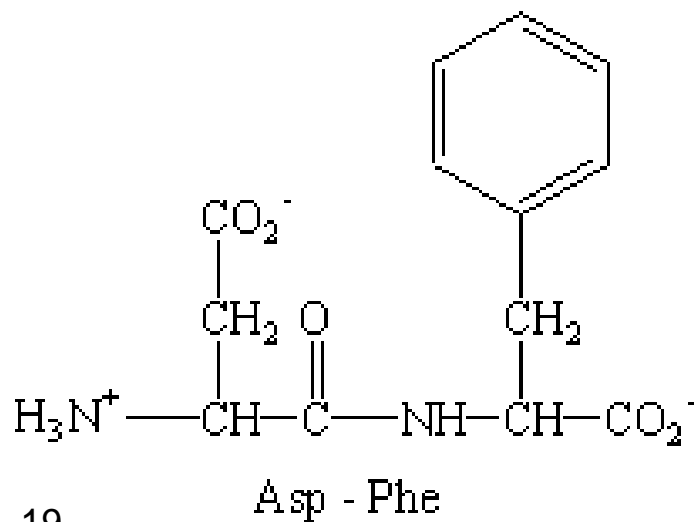
□ تسمية هذا الببتيد الخماسي هو

Serylglycytyrosinylalanylleucine

- عند التحليل المائي لسلاسل طويلة من متعددة الببتيدات (بروتينات) تتكون ببتيديات ذات أطوال (مختلفة)

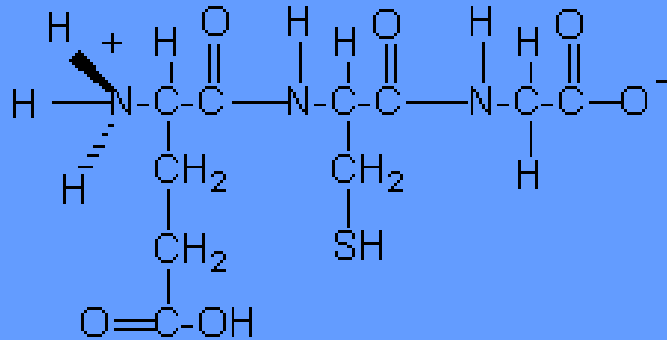


Phenylalanyl aspartate

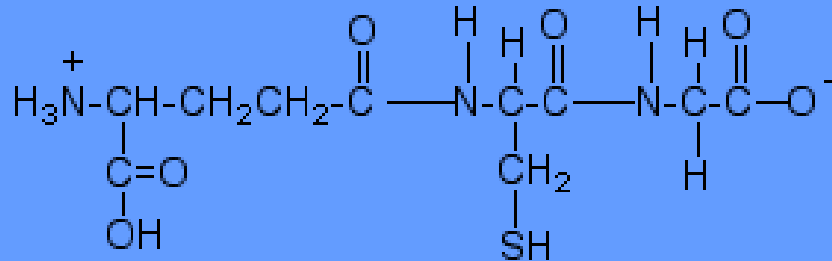


Aspartylphenylalanine

الببتيدات الفسيولوجية



glu cys gly

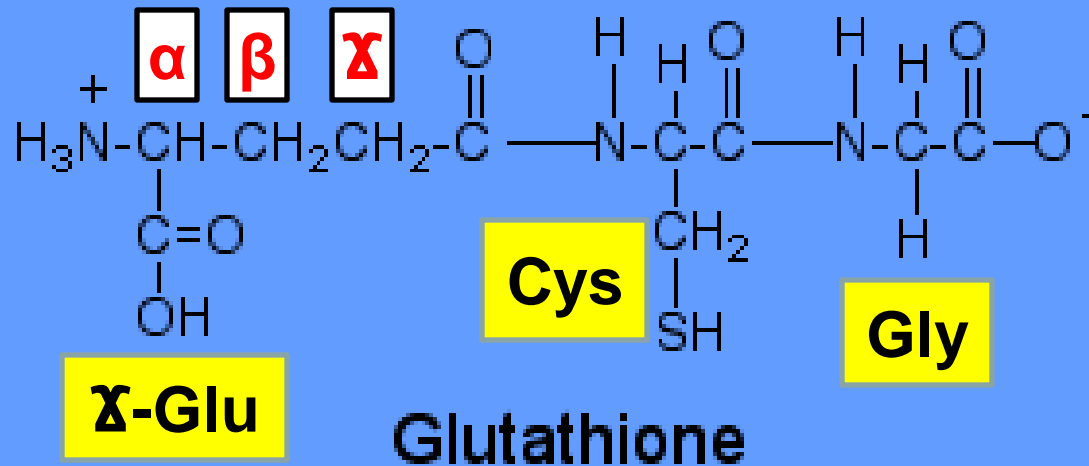


Glutathione

- هناك ببتيدات حيوية ولكنها غير مشتقة من البروتينات مثل:
1. الببتيد الثلاثي
Glutathione الذي يصنع في الجسم

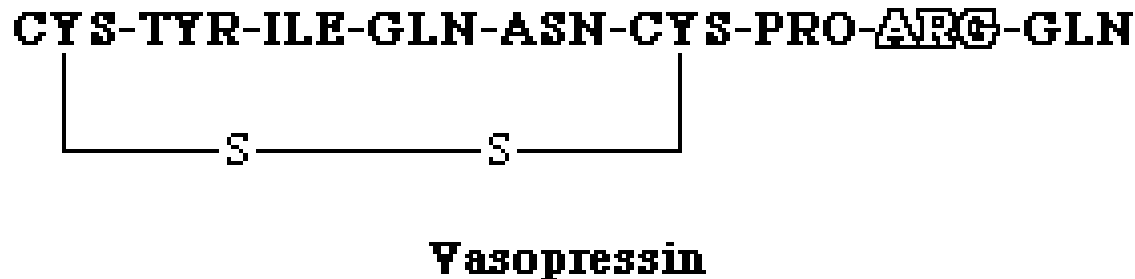
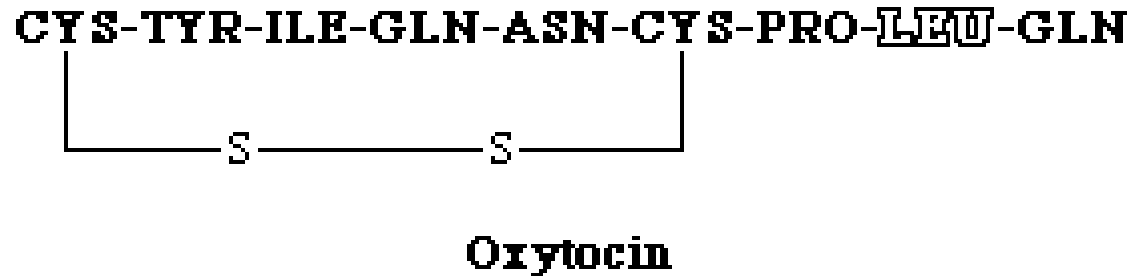
جلوتاثيون

γ -Glutamylcysteinylglycine Gama-Glutamylcysteinylglycine



الببتيدات الفسيولوجية

- هرمونات **الأوكسيتوسين Oxytocin** و **الفاسوبريسين Vassopresin** التي تفرز من الفص الخلفي للغدة النخامية عبارة عن ببتيدات كبيرة (مكونة من 9 أحماض أمينية) و حلقية (Disulfide linkage)

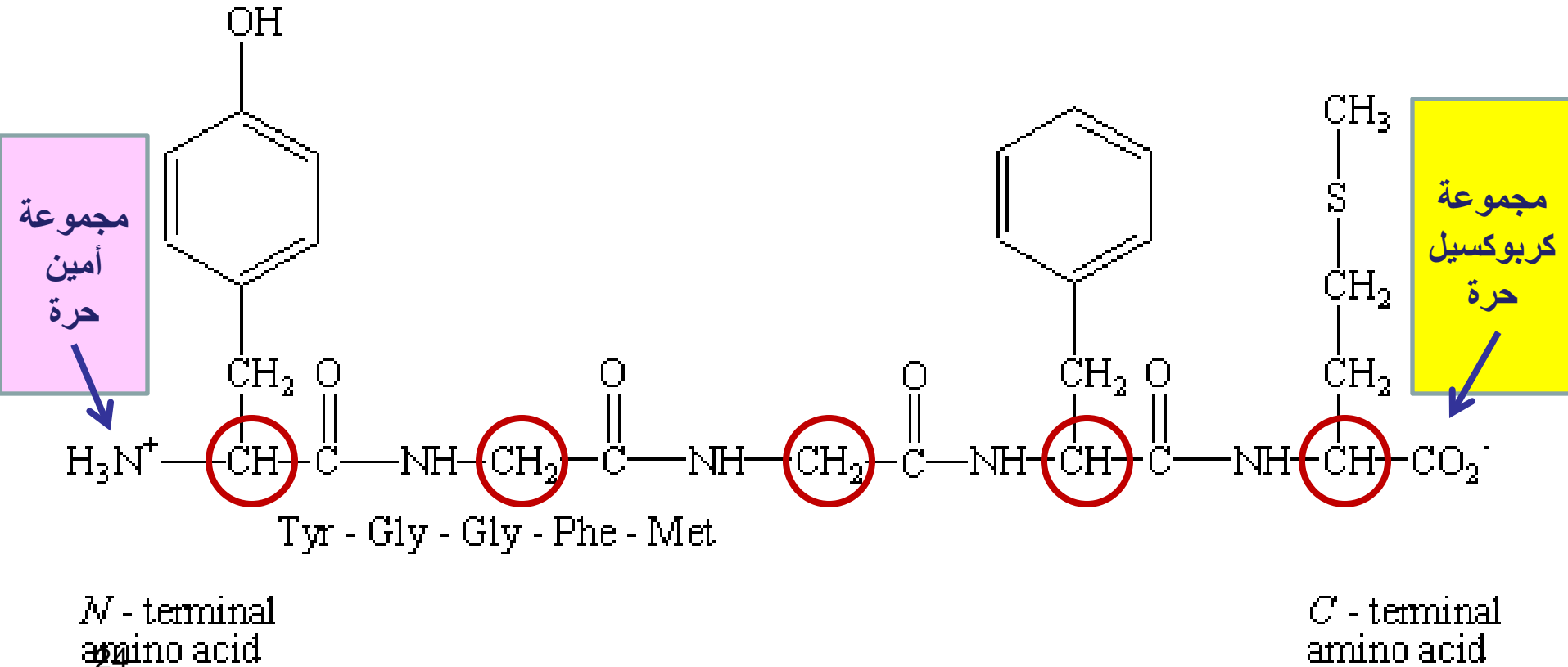


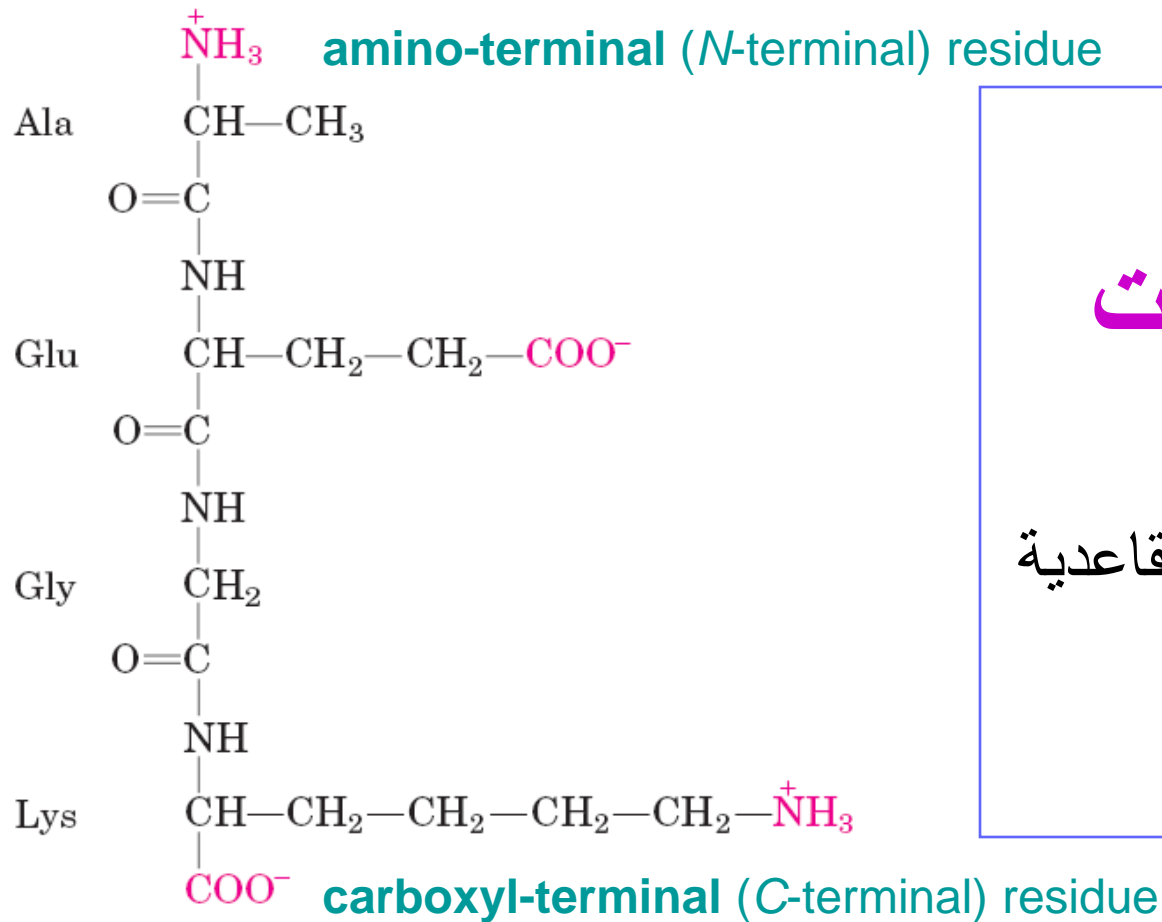
البيبتيدات

• الصفة الحامضية – القاعدية للبيبتيدات

- تحتوي البيبتيدات على مجموعة أمين – ألفا واحدة طليقة وعلى مجموعة كاربوكسيل ألفا واحدة طليقة في كل من نهايتي البيبتيد ، هذه المجموعات متأينة (تتأين) كما تتأين هذه المجموعات في الأحماض الأمينية البسيطة .
- كل من الألفا كاربوكسيل والألفا أمين الداخلية المكونة للبيبتيد تكون مرتبطة بروابط ببتيدية لذلك لا تتأين .

الصفة الحامضية - القاعدية للبيبتيدات





تأين البيبتيدات

الخاصية الحامضية - القاعدية
للبيبتيدات

Alanylgutamylglycyllysine

Like free amino acids, peptides have characteristic titration curves and a characteristic isoelectric pH (pI) at which they do not move in an electric field.

البيبتيدات

□ الصفة الحامضية – القاعدية للبيبتيدات

- مجاميع ال- R (و التي تسمى أيضا بالسلاسل الجانبية)
لمختلف الأحماض الأمينية المكونة للبيبتيد تبرز من العمود
الرئيسي للسلسلة.

البيبتيدات

□ الصفة الحامضية – القاعدية للبيبتيدات

■ وبما أن:

1. مجاميع ال- R لبعض ال- a.a لها القدرة على فقدان وكسب بروتونات.

2. مجاميع α (ألفا) أمين الحرة الوحيدة ومجموعة α كربوكسيل الحرة الوحيدة و الموجودة في نهايتي السلسلة الببتيدية لها القدرة أيضا على التآين.

● فإنه يمكن توقع السلوك الحامضي – القاعدي للبتيد (أي هذه المجموعات المتأينة تشارك في الخاصية الحامضية – القاعدية الكلية للبتيد).

□ الصفة الحامضية - القاعدية للبيبتيدات

الأحماض الأمينية التي تحتوي على مجاميع R متأينة

A. Amino acids with electrically charged side chains

Positive ⊕

Negative ⊖

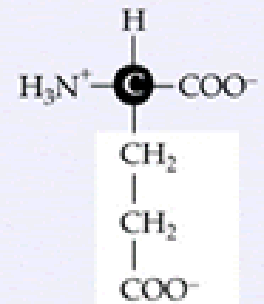
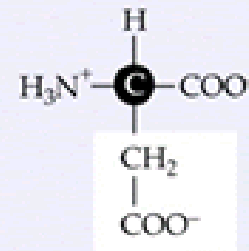
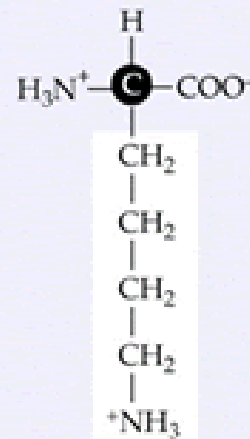
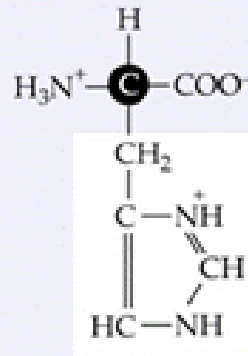
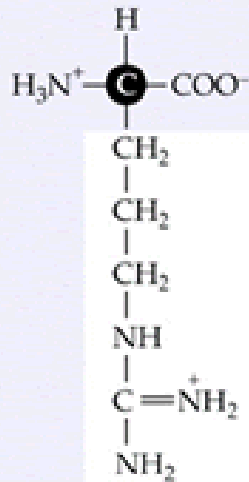
Arginine

Histidine

Lysine

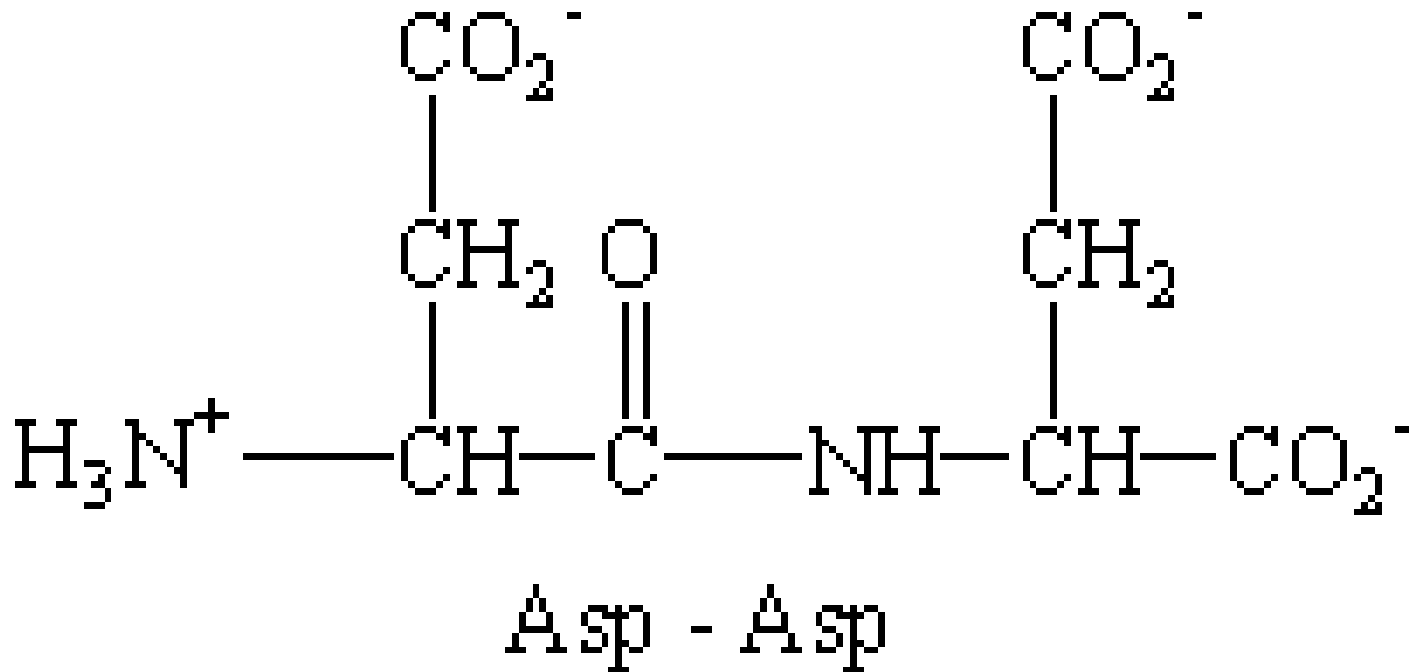
Aspartic acid

Glutamic acid



الصفة الحامضية – القاعدية للبيبتيدات

الأسبارتيت حمض أميني حامضي مشحون بشحنة سالبة لذلك له القدرة على التصرف كقاعدة و يستقبل بروتونات أو أيونات الهيدروجين



البيبتيدات

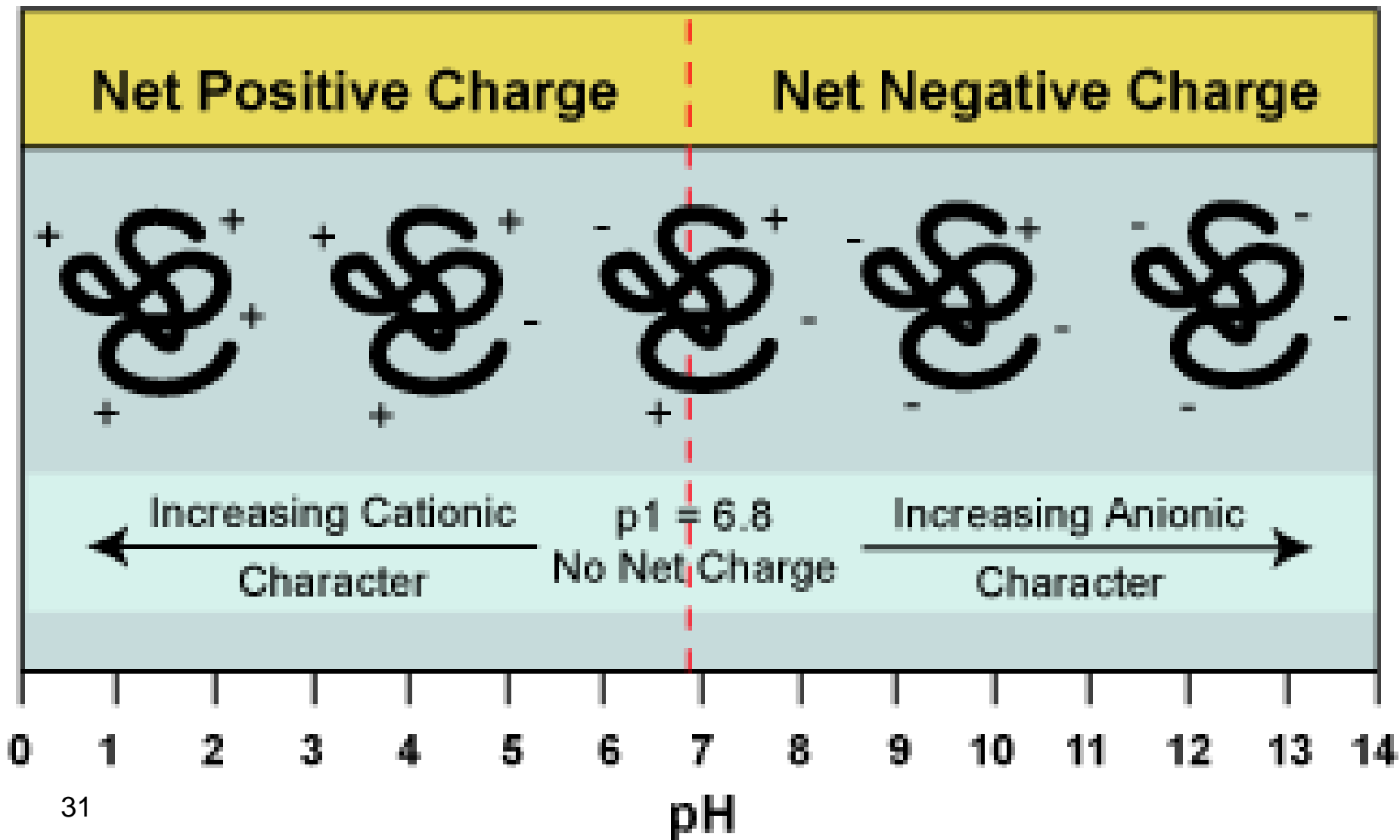
□ نقطة التعادل الكهربائي للبيبتيدات

- كل بيبتيد يمتلك درجة حامضية (pH) معينة إذا تساوت مع pH لمحلول يحتوي على هذا البيبتيد و عندها تسمى هذه الـ pH "نقطة التعادل الكهربائي" (pI) و أخضع هذا المحلول لجهد كهربائي فإن السلسلة البيبتيدية لا تستطيع الحركة باتجاه أي من القطبين سواء الموجب أو السالب، وبالتالي نستطيع أن نفرص البيبتيدات المختلفة عن بعضها البعض بواسطة هذه الطريقة و التي يمكن تطبيقها أما بعملية:

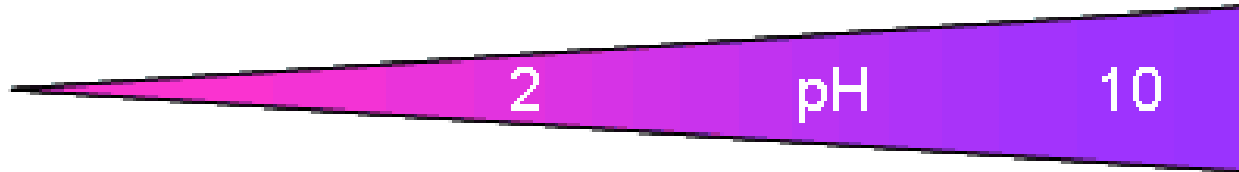
التحليل الكروماتوجرافي

و ذلك استناداً إلى اختلاف هذه البيبتيدات بسلوكها الحامضي - القاعدي عند قيم مختلفة من الـ pH.

نقطة التعادل الكهربائي للبيبتيدات



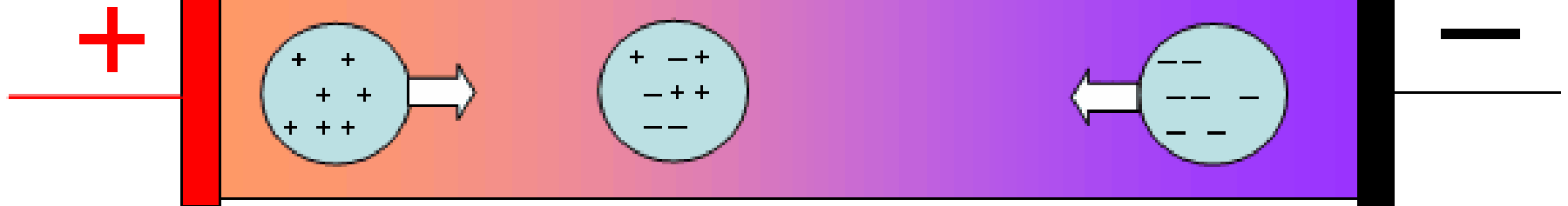
نقطة التعادل الكهربائي للبيبتيدات



أنود

At the p_i , the Peptides has no net charge, so does not migrate in the electric field

كاثود

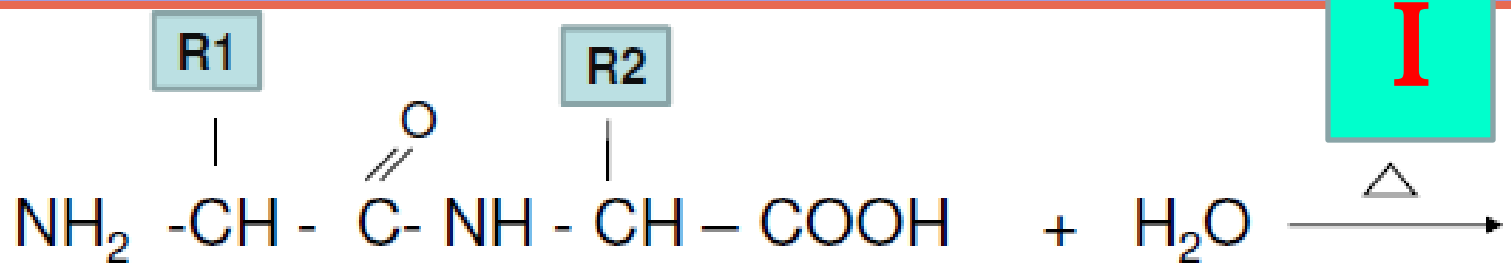


At low pH, all Peptides are highly protonated and positive, so migrate towards cathode

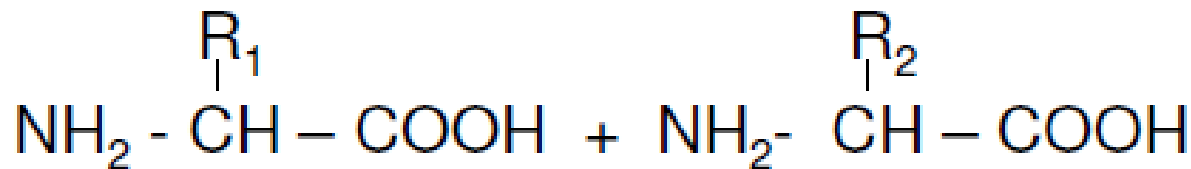
At high pH, all Peptides are highly deprotonated and negative, so migrate towards anode

التعرف على تسلسل البيبتيدات كيميائياً

- هناك تفاعلان كيميائيان مهمان يمكن من خلالهما التعرف على تسلسل الأحماض الأمينية في البيبتيدات، الأول بالتحديد يستخدم لتحلل البيبتيدات مائياً بواسطة غليانها مع حامض قوي أوقاعدة قوية لتنتج مكوناتها من الأحماض الأمينية بصورة طليقة.



بيبتيد ثنائي



أحماض أمينية (a.a) حرة طليقة

التعرف على تسلسل الببتيدات كيميائياً

II

- التفاعل الثاني يستخدم لتعيين تسلسل الأحماض الأمينية للبيبتيد وذلك باتحادهما مع

1-Fluoro – 2,4 Dinitrobenzene (FDNB)

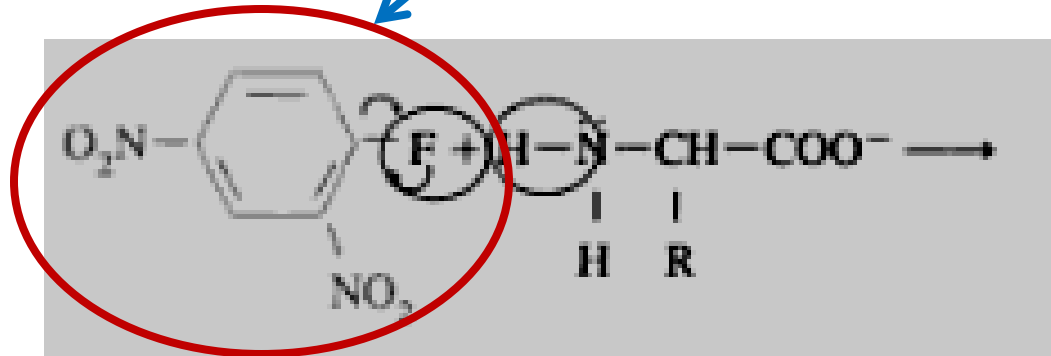
1-فلورو-2,4-داينيتروبنزين

- أولاً: هذا الكاشف يسمى “**بكاشف سانجر**” و يقوم بالتفاعل (في محلول قلوي) مع مجموعة الأمين – ألفا – للحمض الأميني الطرفي في البيبتيد لينتج عنه مشتق:

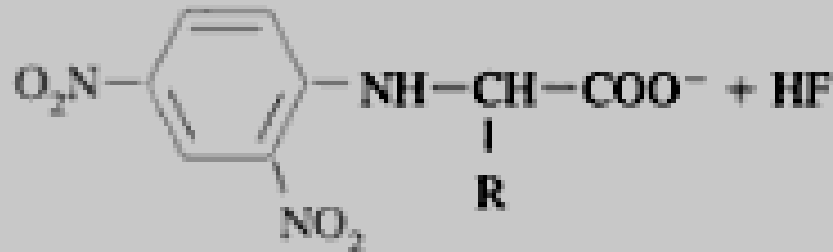
2,4- داينايتروفينايل بيبتيد

2,4- Dinitrophenyl peptide (DNP-Peptide)

كاشف سانجر

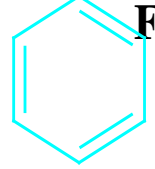
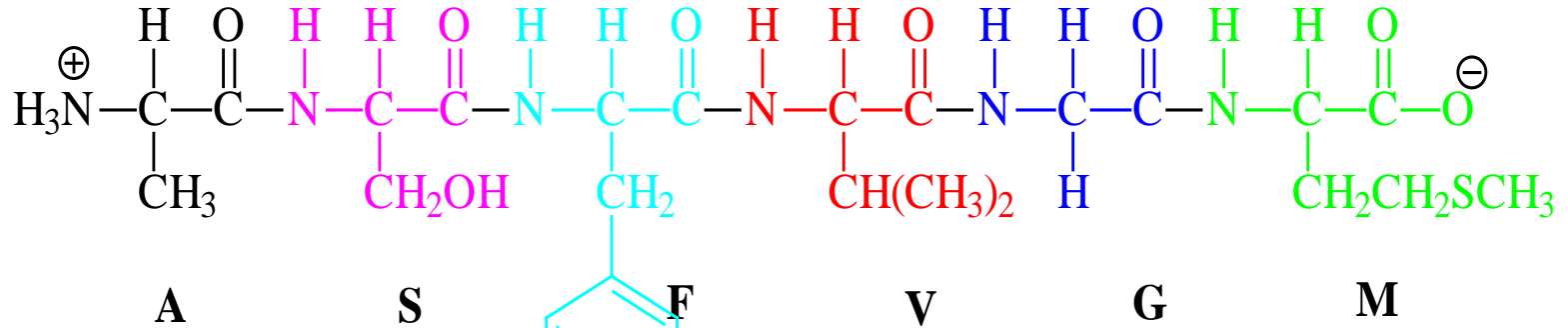


1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene
(Sanger reagent)



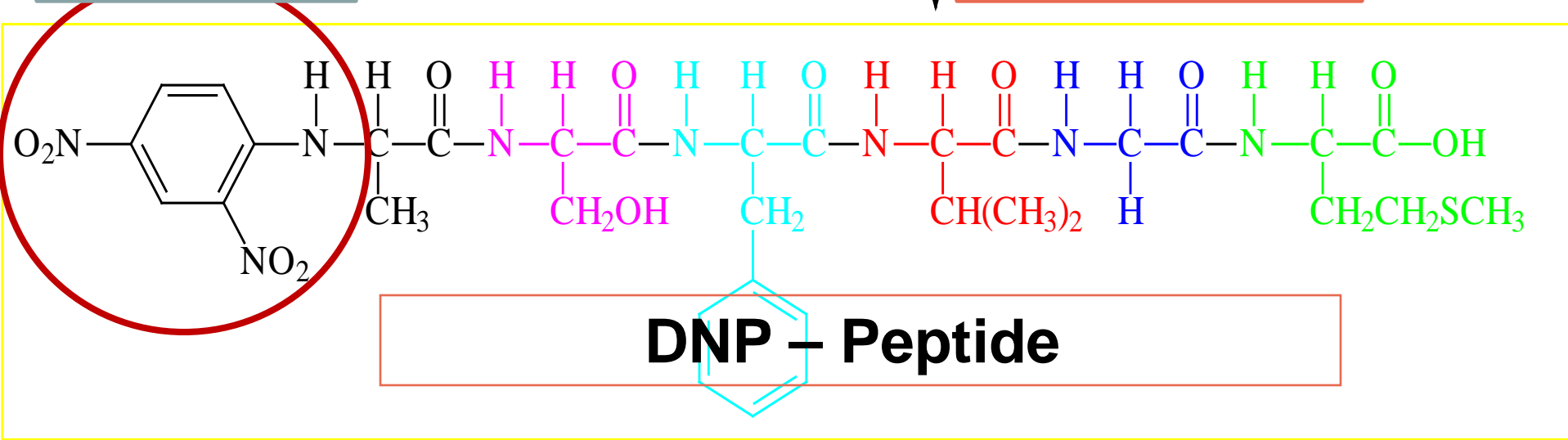
Dinitrophenyl amino acid
(DNP-amino acid)

Sanger's Reagent: N-terminal Amino Acid Analysis

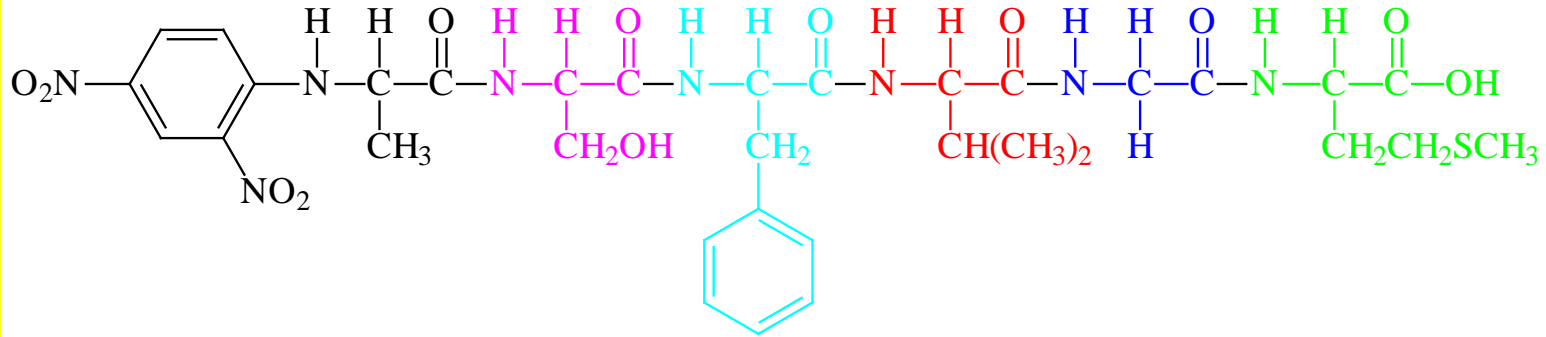


Sanger's Reagent
(2,4-dinitrofluorobenzene)

کاشف سانجر

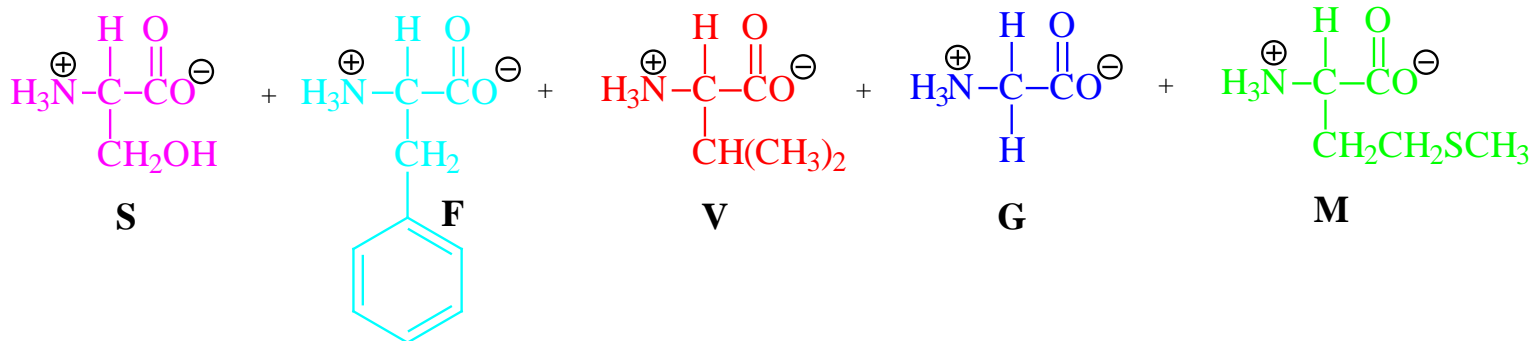
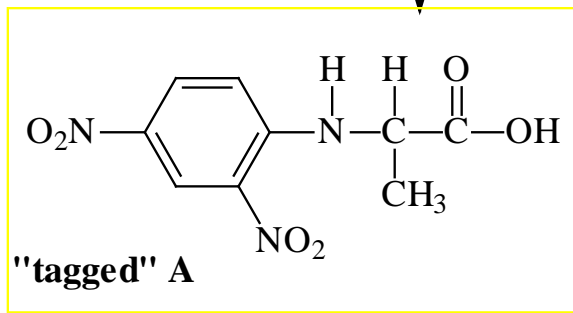


Sanger's Reagent, cont'd



H₃O⁺, heat
(total hydrolysis)

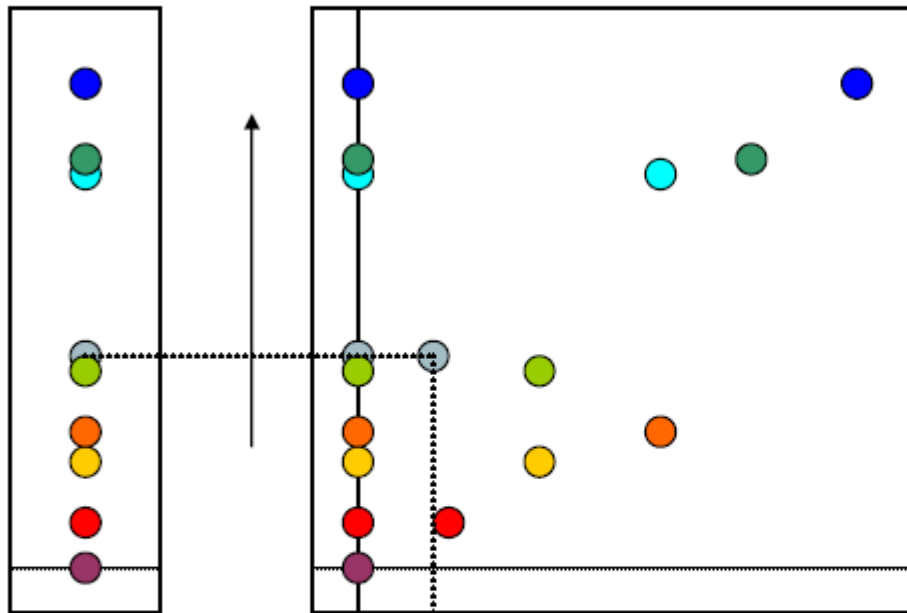
DNP – AA



("tagged" A plus an equimolar mixture of S, F, V, G, and M)

Paper Chromatograms

first elution



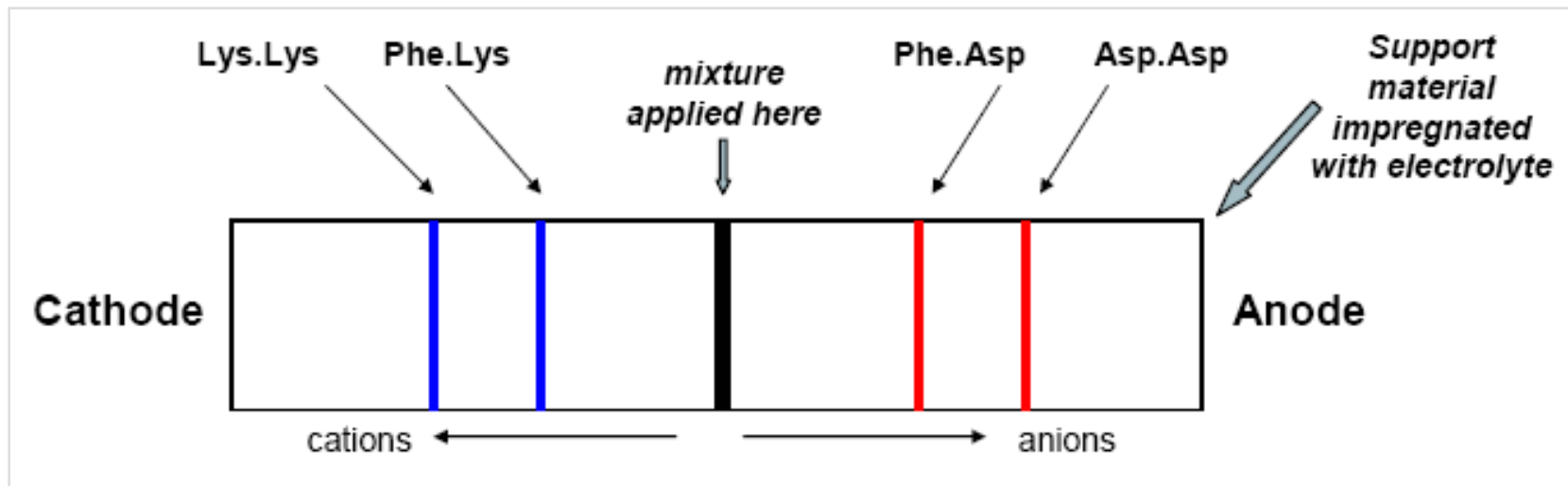
2D chromatogram eluting with a different solvent mixture in each direction.

second elution



Electrophoresis

- Electrophoresis is a technique that uses the net charge of peptides (amino acids) as a basis for separation.
- A potential difference is applied across a solid material (e.g. paper for amino acid analysis) permeated by an electrolyte.

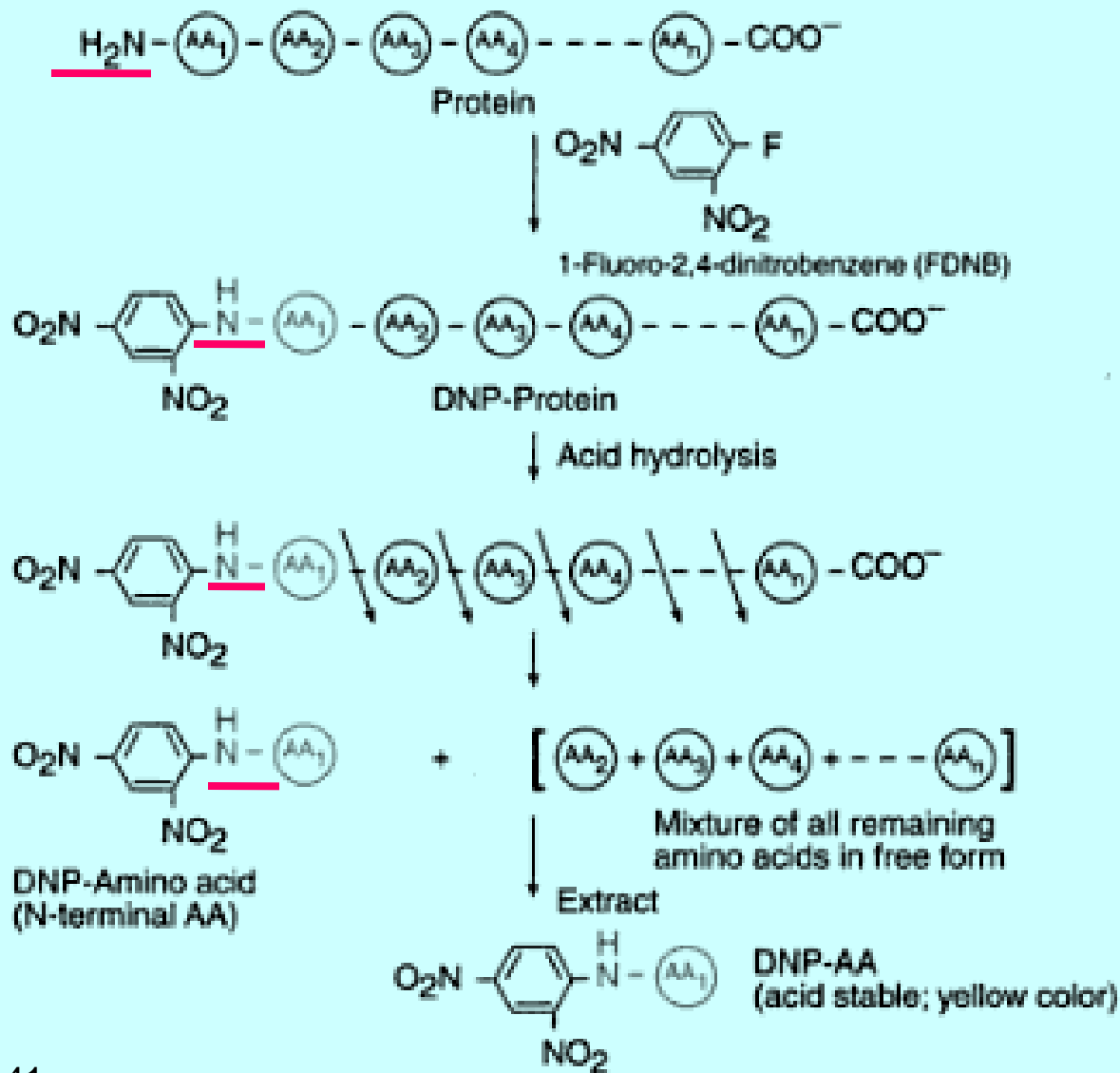


- Anions migrate to the anode and cations to the cathode. The rate of diffusion is related to the size and net charge. Small highly charged proteins migrate more quickly.

التعرف على تسلسل الببتيدات كيميائياً

- **ثانياً:** معالجة هذا الناتج بحمض يؤدي إلى كسر كل الروابط الببتيدية الموجودة في الببتيد ولكن لا يكسر الرابطة التي بين FDNB و N-terminal residue (الحمض الأميني الموجود في الطرف الأميني للببتيد) يؤدي إلى خليط من:
a.a الحرة + DNP-aa أصفر اللون .

نستخلص هذا المركب من الخليط بواسطة اختلافهم في الذوبانية ويمكن التعرف على هذا الحمض الأميني بواسطة الكروماتوجرافي أو الإلكتروفوريسز .

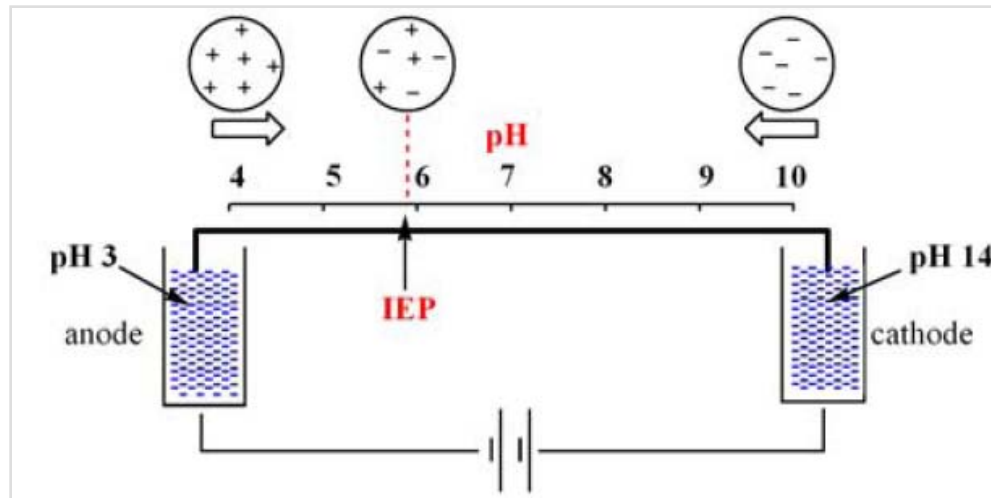


تفاعل
سانجر

Sanger
reaction

Isoelectric Focusing (IEF)

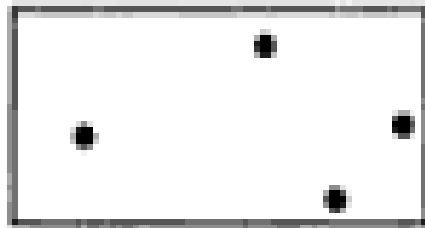
- It is difficult to separate two peptides or proteins of similar MW if they differ only slightly in their net charge at a given pH.
- This problem can be overcome by performing the electrophoresis across a pH gradient – known as isoelectric focusing.



- As soon as the IEP is reached the proteins carry zero net charge and stop migrating.

تفاعل سانجر

↓ Chromatography

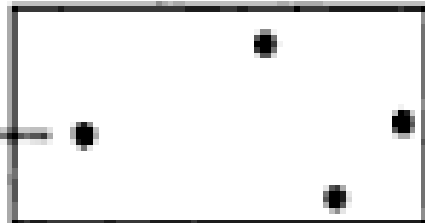


Qualitative
determination

↑
Unknown
DNP-AA

↑ ↑ ↑
Standard
DNP-AA's

1. Elute spot
2. Measure
absorbance



Quantitative
determination