Denaturation of the proteins

- Unfolding of protein: occurs due to different factors:
  - Urea
  - Extreme pH and temperature
  - Organic solvents

- Leads to loss of secondary and tertiary structure and hence, loss of function.

- Most of proteins can‘t refold upon removal of the denaturant (irreversible denaturation)

حكينا بالمحاضرة الماضية إنه في عندي specialized group من البروتينات اسمه chaperones بساعد على إنه يصير folding للبروتينات بوضعية معينة .

هلأ في حال إنه مثلاً ضفت عليه مادة متل وحدة من ال solvent متل الإيثانول، إيثر، .. هاي المواد مجرد ما تيجي ع إيدك ح تصير بيضا أو إذا غسلت مثلاً إيدك بإيثانول ح تنشف ، ليش ؟ لأنه البروتينات الموجودة عالجلد صارلها Denaturation ، شو يعني ؟
عبارة عن إنه : فقدان ال secondary and tertiary structure وظيفتهم، أو بطريقة أخرى اتحوّل من secondary and tertiary لشو ؟ ل primary برجع خطي linear.
بتكون هاي العملية irreversible Denaturation يعني صار عنا Denaturation بسبب مجموعة عوامل رح نحكيها هسا وما قدر البروتين يرجع لوظيفته لإنه ما عم يصيرله folding ورجع لل primary structure ، شو هاي العوامل ؟

1) Urea:

اليوريا باختصار شديد بتعمل على تكسير وإفساد البروتين ، رح أحطلكم لينك للّي حابب يعرف بالتفصيل علاقة البروتين بال urea و إلّي بسببها بصير Denaturation، اكبسوا عالمربع عشان يفتح اللينك بس ضروري تكونوا فاتحين الملف من كروم عشان تفتح اللينكات

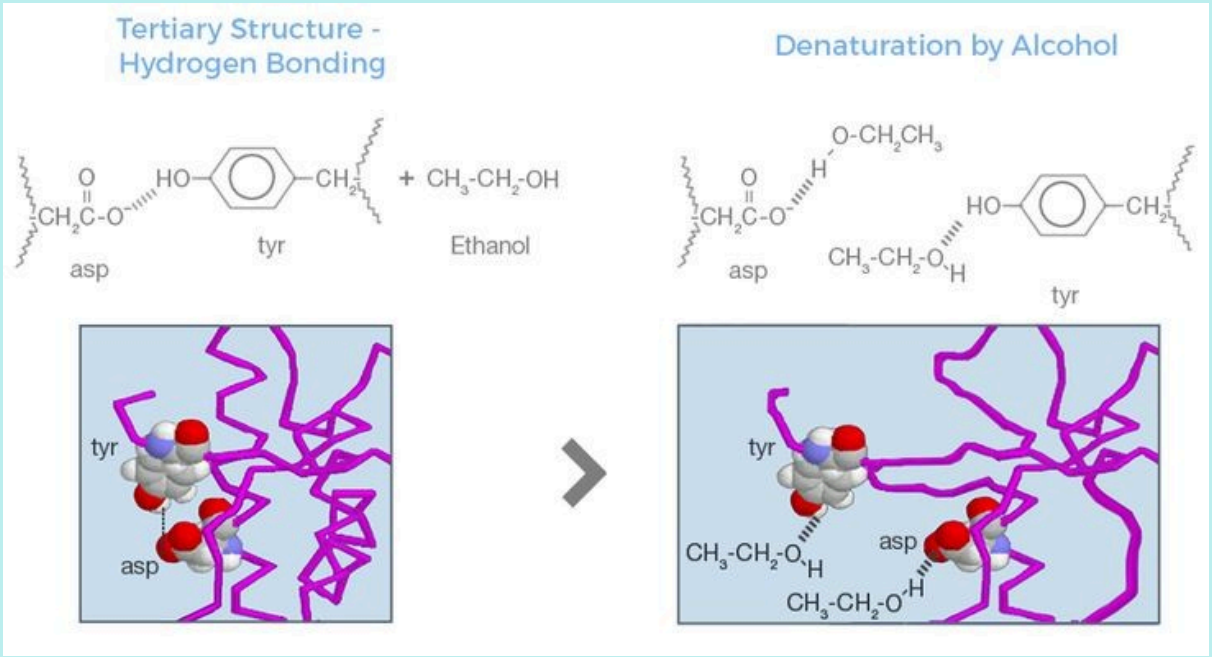
2) extreme PH and Temperature

انخفاض وارتفاع ال PH .
انخفاض أو ارتفاع درجة الحرارة ، خاصة وقت انخفاضها ، في عنا إشي اسمه dry ice وهو عبارة عن CO_2 مجمّد ومجرد وصوله على إيدك مثلاً رح تنحرق ! لأنه متل لما تعرض إيدك للنار (حرارة عالية) رح تنحرق ف برضو الدرجة الحرارة المنخفضة بتحرق .

رح أحطلكم صورة ال Ice Dry واتخيلوا كمية البرودة فيه إنه بتم حفظه بدرجة حرارة -78 !!

3) Organic Solvent:

حكينا عنهم بالسلايد الماضي إلّي هم الإيثانول والإيثر وهيك, للناس الفضوليين إلّي بدهم يعرفوا كيف بإثروا على عملية ال Denaturation شوفوا هاي الصورة ولاحظوا كمان كيف بصير يرجع البروتين ل primary.



مش كل البروتينات بصيرلها بس irreversible ، عدد قليل فقط بكونوا irreversible ، يعني إذا حكتلك بالامتحان إنه
All of protein is irreversible Denaturation? False ❌
لأنه في بروتينات بصيرلها reversible.

خلال عملية تصنيع البروتينات بالبكتيريا والأماكن التانية غير البشر ممكن يصيرلها folding عادي بس ما بكون بالطريقة الصحيحة ف بالتالي مش ح يعمل ال function الخاصة إله ، شو بنعمل بهاي الحالة ؟
بنضيف عليه يوريا وبنعمل Denaturation بعدين بنسحب منه اليوريا شوي شوي وبصير ال folding صحيح..
وممكن هاد يعمل Diseases رح نحكي عنهم بالسلايد إلّي بعده .

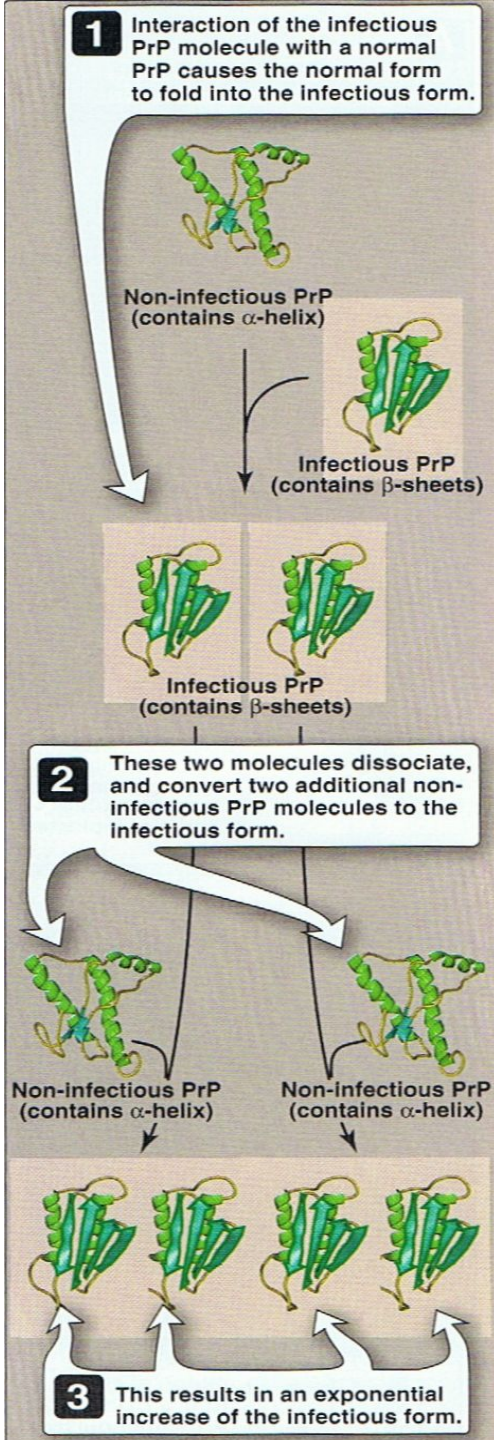
Diseases related to denaturation of proteins

- Alzheimer disease:

Normal proteins,after abnormal chemical processing, take on a unique conformational state that leads to the formation of neurotoxic amyloid protein assemblies consisting of β-pleated sheets.

- In Transmissable Spongiform Encephalopathy 5 (Mad cow disease):

The infective agent is an altered version of a normal prion protein that acts as a “template” for converting normal protein to the pathogenic conformation.



نحكي عن أول مرض وهو الزهايمر:
عبارة عن amyloid protein موجود في ال membrane ، في بكون عنا beta secretase enzyme وظيفته يكسّر البروتين وينتجلي هاي ال amyloid protein، ف بتصير تتراكم البروتينات وتتجمع على بعضها وتعطيني متل أشكال beta pleated sheets وبتترسب
وين بترسب ؟ بأعصاب الدماغ وبنتج neurotoxin amyloid protein

٢) جنون البقر :
كانوا مفكرين إنه في ڤايروس أو بكتيريا هي مسببة هالمرض
بعدين اكتشفوا إنه في عندي infectious في بروتين اسمه prion protein إلّي بكون على شكل alpha helics وبعدها بتحول ل beta sheets وبضل يعدي إلّي جنبه وهيك ف بتتأثر الخلايا الطبيعية وبصيروا يتجمعوا في الأعصاب ف بإثر عالدماغ

Biosynthesis of protein

- The information that tells a cell how to build the proteins it needs to survive is coded in the structure of the DNA in the nucleus of that cell.

- Because there are only four nucleotides and there are 20 amino acids that must be coded. the nucleotides are grouped in threes, however, there are 64 possible triplets, or **codons**

- DNA only stores the genetic information, while RNA is responsible of its translation to protein

Biosynthesis of protein

1. Transcription

- Before the information in DNA can be decoded, a small portion of the DNA double helix must be uncoiled
- A strand of RNA is then synthesized that is a complementary copy of one strand of the DNA using RNA polymerase.
- RNA uses U where T would be found in DNA and base pairing occurs between two chains that run in *opposite directions*. The RNA complement of this DNA should therefore be written as follows.
- 3´ T-A-C-A-A-G-C-A-G-T-T-G-G-T-C-G-T-G... 5´ *DNA*
- 5´ A-U-G-U-U-C-G-U-C-A-A-C-C-A-G-C-A-C... 3´ *mRNA*
- Since this RNA strand contains the message that was coded in the DNA, it is called **messenger RNA**, or **mRNA**.

بكون عندي ال DNA بحمل مادة وراثية لأي بروتين جوا ال nucleus
هلا مجرد ما تيجي الأوامر ح يرتبط ال promoter على الجين إلّي بصنع البروتين ف بعمل uncoiling وبفتحه، بعدها ببلش ال RNA ينسخ عنه نسخة

بدي أعرف إنه في ال DNA عندي اتجاهين:
3 prime- 5prime // 5 prime- 3prime

بينما ال RNA بتكون عبارة عن Polymerase

ف بصير تصنيع قطعة من الماسنجر RNA وهاي القطعة بقدر أعمل عليها modification أو في أشياء ما بقدر أترجمها أو إذا في شي ما بلزمني بشيله
وبعدين هاد الماسنجر RNA بغادر ال nucleus بينما ال DNA بضل موجود وما بقدر يغادرها
حتى أكون صريحة معكم ما حسيت إني فهمت ع طريقة الدكتورة بشرح باقي السلايدات ، ف رح أشرحلكم إياه بطريقتي ضمن الموجود بالسلايدات ، وبنفس الوقت لازم تقرأوا السلايدات بعدها.

Biosynthesis of protein

2. Translation

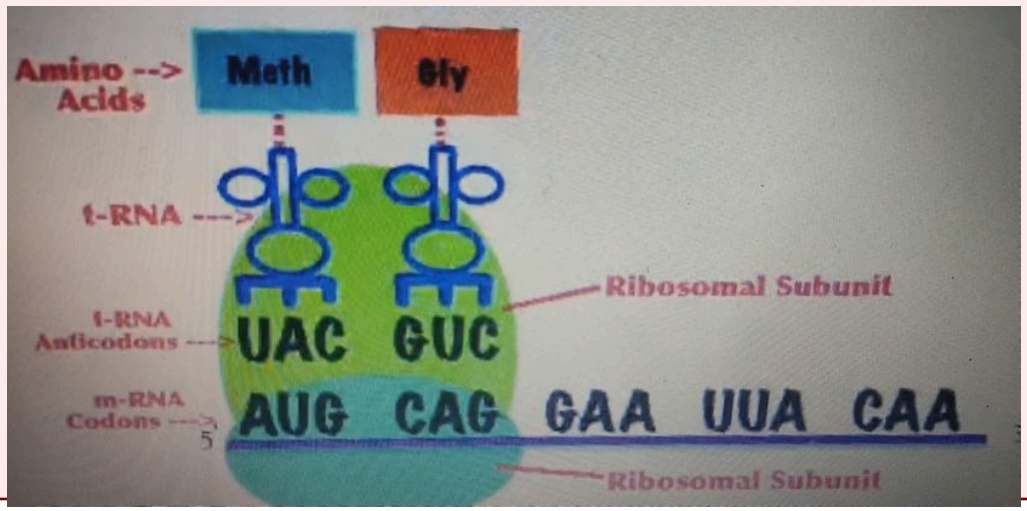
- The messenger RNA now binds to a ribosome, where the message is translated into a sequence of amino acids.

- The amino acids that are incorporated into the protein being synthesized are carried by relatively small RNA molecules known as **transfer RNA**, or **tRNA**.

- There are at least 60 tRNAs, which differ slightly in their structures, in each cell. At one end of each tRNA is a specific sequence of three nucleotides that can bind to the messenger RNA. At the other end is a specific amino acid.

- each three-nucleotide segment of the messenger RNA molecule codes for the incorporation of a particular amino acid.

تكوين البروتين بمر بمرحلتين أساسيتين :
الأولى : Transcription إلّي بصير فيها تحويل ال genetic code الموجودة في ال DNA ل mRNA ف بطبع عليه المعلومات الوراثية الموجودة في ال DNA
بعدها الماسنجر mRNA رح يمر بعدة عمليات لحتى يصير جاهز لل translation وهالحكي كله بصير بداخل ال Nucleus
الثانية : Translation بهاي العملية رح يغادر ال mRNA النواة ويروح لل ribosomes الموجودين في ال cytoplasm وإلّي بصير فيها translated لسلسلة أحماض أمينية في البروتين
ف بنلاحظ إنه ممكن يصير replication لل DNA أو بدون، وبعدها عن طريق ال Transcription بتحول ل mRNA وبعدها بنتقل ل ribosomes وبعمل عملية translation وبتكون البروتين ..
لحتى تصير عنا عملية ال translation لازم يكون عندي موجود ال Three Types of RNA لأنه كل نوع إله دور في هاي العملية ، وانواعه هم : mRNA, rRNA, tRNA
عملية ال translation بتمُر بتلات محطات :
1) initiation , 2) Elongation, 3) Termination.
طيب نبلش بأول مرحلة وهي initiation:
هون mRNA بكون جاهز لعملية translation ،بينما ال tRNA ح يرتبط بالحمض الأميني الأول وهو methionine وإلّي بمثل أول كودون وهو AUG ، مع ملاحظة سريعة هون إنه ال DNA بتحتوي على ثايمين T, بينما RNA بتحتوي على يوراسيل U
هلأ هادي ال first codon الموجود على mRNA
كمان بدي أعرف إنه بكون عندي two sub- unit وحدة صغيرة ووحدة كبيرة
ح ييجي ال mRNA ويرتبط بينهم عن طريق مواقع معينة وبعدها بصير tRNA جاهز لعملية ال translation, هي صورة توضيحية :
مع ملاحظة إنه ال codon بكون في ال mRNA وبقابلها ال anti-codon في ال tRNA



المعلومة هاي نفسها أخدناها بالأحياء ف نختبر ذاكرتكم :
طبعًا بكون عنا 4 nitrogen base بتكون قادرة تعطينا 64possible triplets أو يعني 64 codons فبالتالي بكون عنا 20amino acids, هلأ كل ٣ triplets codon ح يعطوني الحمض الأميني
في عندي كودون البداية هو AUG, وتلات كودونات نهاية هم UAA, UAG, UGA مجرد وجود حدا منهم التلاتة بتوقف عملية ال translation, وهي الصورة عشان تتذكروا أكثر

1st letter	Second Letter: U	Second Letter: C	Second Letter: A	Second Letter: G	3rd letter
U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU UCC Ser UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC UGA Stop UGG Trp	U C A G
C	CUU CUC Leu CUA CUG	CCU CCC Pro CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU CGC Arg CGA CGG	U C A G
A	AUU AUC Ile AUA AUG Met	ACU ACC Thr ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G
G	GUU GUC Val GUA GUG	GCU GCC Ala GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU GGC Gly GGA GGG	U C A G

Biosynthesis of protein

2. Translation

- The signal to start making a polypeptide chain in simple, prokaryotic cells is the triplet AUG, which codes for the amino acid methionine (Met). The synthesis of every protein in these cells therefore starts with a Met residue at the *N*-terminal end of the polypeptide chain. After the tRNA that carries Met binds to the start signal on the messenger RNA, a tRNA carrying the second amino acid binds to the next codon. A dipeptide is synthesized when the Met residue is transferred from the first tRNA to the amino acid on the second tRNA.

- The mRNA now moves through the ribosome, and a tRNA carrying the third amino acid (Val) binds to the next codon. The dipeptide is then transferred to the amino acid on this third tRNA to form a tripeptide.

- This sequence of steps continues until one of three codons is encountered: UAA, UGA, or UAG. These codons give the signal for terminating the synthesis of the polypeptide chain, and the chain is cleaved from the last tRNA residue

نترجم السلايد :
أول شي polypeptide يعني سلسلة من ال Peptide متجمعين مع بعض حتى يعملوا البروتين
هلأ ال prokaryotic هي خلايا البشر ، بكون ال Nucleotides إلّي ببلش فيها عملية ال translation أو صنع ال Peptide هي ال AUG وانتبهوا عال U لإنها mRNA ف لو ناخد هالكود ونرجع للجدول إلّي قبل سلايدين بنلاقيه كود لل methionine
وانتبهوا إني رجعت لل mRNA بعملية ال translation مش ال DNA
هلأ هاد ال methionine هو اختصاره MET
هلأ لما اجي اعمل translation وفعليًا كل البروتينات في العالم ح تلاقوها مبلشة بهاد ال amino acids
إذا ما كان موجود ما ح يصير translation لأنه هو first codon إلّي بتبلش فيه هاي العملية
هلأ نرجع لل tRNA الموجود في ال ribosomes بجيب اول amino acids إلّي هو ال methionine

طيب كيف بتيجي هاي ال Met وبتتركب وبصير ال translation؟
هلأ بعد ما عملنا Transcription وحولنا ال DNA ل mRNA وطلع من ال Nucleus وراح لل rough endoplasmic reticulum لعند ال ribosomes

بهاي ال ribosomes بكون عندي ال mRNA الحامل للرسالة إلّي بدي أعمللها translation وأصنع البروتين ، هاد ال mRNA لل ribosomes وهاد ال ribosomes هو بعمل translation كيف ؟ بكون جواه اشي اسمه tRNA و إلّي بعمل translation لل mRNA بحيث إنه ياخد كل 3 nucleotide وبصنفه كأنه حمض

يعني مثلاً والله هي أول ٣ كودونات AUG هاي Met وهي ثاني ٣ كودونات وهكذا ..

فعليًا ما بكون عندي tRNA واحد بال ribosomes بكون عندي آلاف منه وبتصير عملية الترجمة متل ما حكينا وبنصفّوا مع بعض وبتخلص ال translation

كيف أعرف إنه خلصنا ؟ متل ما حكيت لما نوصل لل Stop codon التلاتة

هلأ مثلاً عندي dipeptide يعني Peptide 2 لنفس الواحد ، ف خلص ال Met بروح من ال sequenceهاي إلّي صنّعتها وبرجعه على tRNA لحتى يصير start translation تاني

هلأ متل ما حكينا إنه ال tRNA موجودة بال ribosomes وإلّي من خلالهم بتصير الترجمة ، ف ال mRNA بعمل mves through the ribosomes ،

هاد ال mRNA متل كأنه بعمل Complementary عالكودونات وبكمل ال amino acids عندي

وبتضلها السلسلة تتكرر بنفس الطريقة من التاني للتالت للرابع وهكذا

ضروري تحضروا الڤيديو هاد عشان تفهموا الكلام بهالصفحتين اكبسوا عالمربع متل دايمًا

Biosynthesis of protein
2. Translation

- The sequence of DNA described in this section would produce the following sequence of amino acids.

Met-Phe-Val-Asn-Gln-His-...

- This polypeptide is not necessarily an active protein. All proteins in prokaryotic cells start with Met when synthesized, but not all proteins have Met first in their active form.

- It is often necessary to clip off this Met after the polypeptide has been synthesized to give a protein with a different *N*-terminal amino acid

بهاد السلايد ما في إشي جديد
نفس الكلام حكيته بالصفحتين الماضيين
بس بحكيلك إنه ال Sequence of DNA بتكمل بالعملية
لحتى ينتج التسلسل إلّي موجود قدامنا
وبعدها بحكيلك صح وجود ال Met إشي ضروري بتكوين
البروتين وهو ال first codon بس مع ذلك مش كل البروتينات
بكون فيها هاد ال Met بشكله النشط
وأخر شي برضو متل ما حكينا إنه من الضروري بعد ما اخلص
من ال sequence هاي إني أعمل Clip of لل methionine
عشان أستعمله ب بتكوين sequence أو بروتين جديد

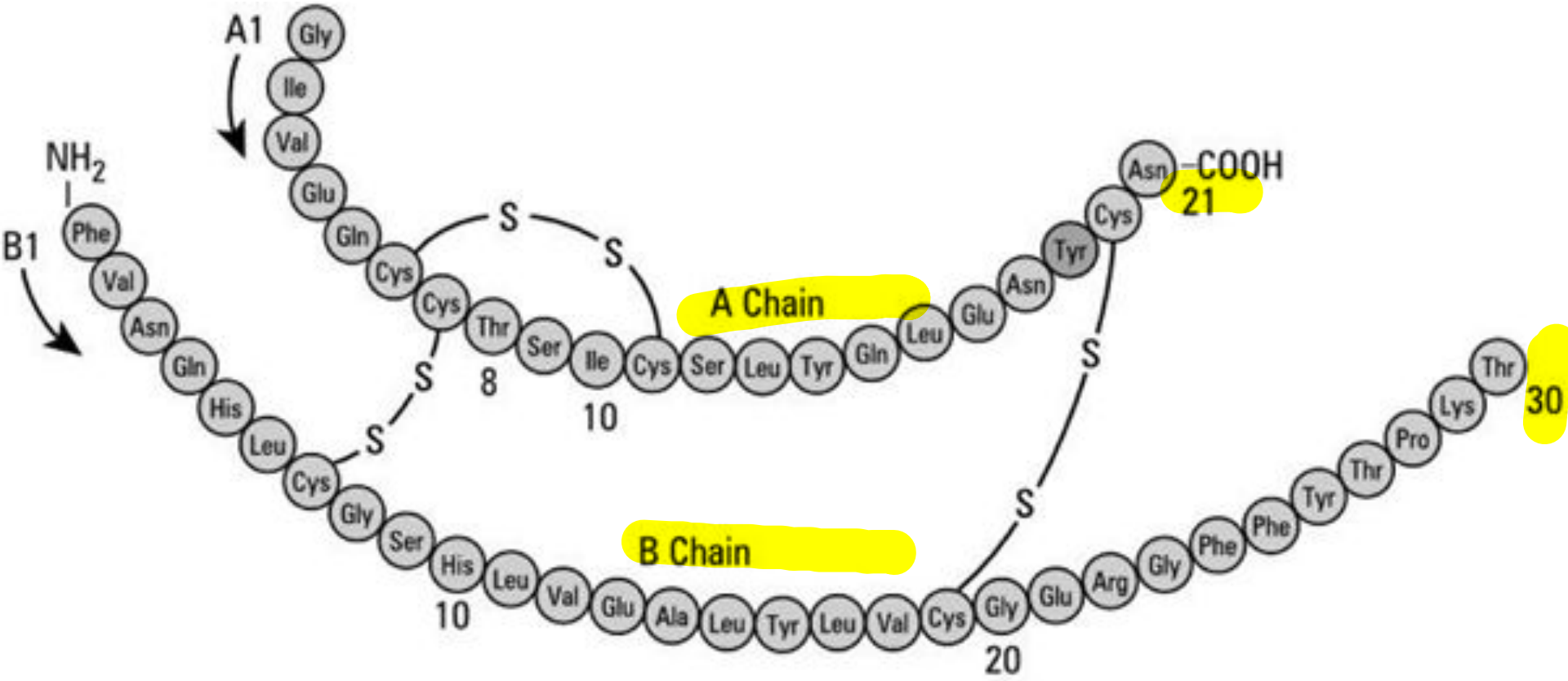
Biosynthesis of protein
3. Post-translational modification

- Modifications to the polypeptide often have to be made before an active protein is formed

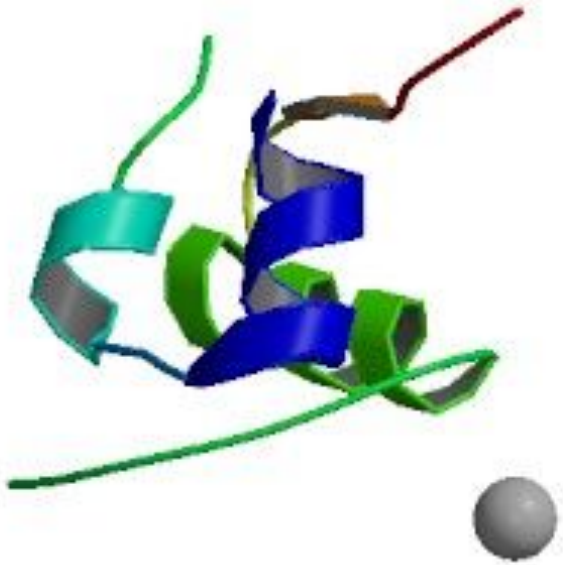
- Example:
  - Insulin consists of two polypeptide chains connected by disulfide linkages. In theory, it would be possible to make these chains one at a time and then try to assemble them to make the final protein
  - The polypeptide chain that is synthesized contains a total of 81 amino acids.
  - All of the disulfide bonds that will be present in insulin are present in this chain. The protein is made when a sequence of 30 amino acids is clipped out of the middle of this polypeptide chain

Primary structure of human insulin

Chains A and B, including the interchain disulfide bonds A7-B7 and A20-B19 and intrachain disulfide bond A6-A11



Tertiary and quaternary structure of insulin



هلأ بعد ما صار Translation وصنعت البروتين ممكن اعمل عليه تعديل modification.

مثلاً الإنسولين بتصنّع بهاد الشكل وهو إنه عندي two polypeptide chain مرتبطين ب disulfide linkage, وكل وحدة فيها 81 amino acids
عند ال ٢١ بقطع وعند ال ٥١
ف هيك بكون قص ٣٠ حمض
بكون عندي A,B, Chain وكمان C Peptide
بكونوا مقسّمين : A Chain: 21 amino acids
B Chain: 30 amino acids
C Peptide: 30 (بتكون بالوسط)
بس فعليًا بصير قص ل C Peptide ف بنعتبر الأنسولين فيه بس 51 amino acids وبعدها برتبطوا ال A and B Chain برابطة Disulfide bonds
هاد كله الهدف منه يفرجيني كيف صار الأنسولين بشكله النهائي بعد ما صارله translation