وزارة التعليم العالي
و البحث العلمي
المدرسة العليا للأساتذة
القبة القديمة- الجزائر
قسم العلوم الطبيعية

Minister de l'enseignement
Supérieur et la Recherche
Scientifique
Ecole Normale Supérieur
Vieut Kouba-Alger
Département de sciences
Naturelle

تقنيات التحليل و التعرف على تسلسل الأحماض الأمينية في البروتينات

مذكرة تخرج لنيل شهادة أستاذ التعليم الثانوي

إعداد :
بوجميل أمال
بوطاغو سامية
حميزي أمينية

تحت إشراف الأستاذ:
لمغربي محمد

لجنة المناقشة:

الأستاذ: كاملي عبد الكريم ..... رئيسا
الأستاذ: فقاس رشيد ..... ممتحنا
الأستاذ: محمودي عبد الغني ..... ممتحنا
الأستاذ: لمغربي محمد ..... مشرفا

السنة الدراسية :2007-2008

دفعة جوان 2008

الفهرس

الصفحة

- **المختصرات**
- **المقدمة العامة 1**

الفصل الأول: الجزء النظري

- **لمحة تاريخية 2**

1- تعريف البروتينات 5

2 - الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للبروتينات 5

3- تصنيف البروتينات 6

4- التقدير الكمي و النوعي للبروتينات 8

4-1: <u>الطرق الفيزيائية</u>

4-1-1 الترسيب 8

4-1-2 الكروماتوغرافيا 9

4-1-2-1 كروماتوغرافيا الأعمدة 9

4-1-2-2 كروماتوغرافيا الورقية 12

4-1-2-3 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة 13

4-1-3 الهجرة الكهربائية 15

4-1-3-1 الهجرة الكهربائية على هلام متعدد الأكريلاميد 15

4-1-3-2 Fo calisation isoélectrique..... 16

4-1-4 البلورة باستعمال الأشعة x 16

4-1-5 المطيافية باستخدامRNM 17

4-2 : <u>الطرق الكيميائية:</u>

4-2-1 الترسيب 17

4-2-2 تفاعل Sanger 17
4-2-3 تفاعل Edman 18
4-2-4 تفاعل CNBr 19
4-2-5 التحليل الحامضي و القاعدي 20
4-2-6 التفاعلات اللونية 21
4-2-6-1 تفاعل Ninhydrine 21
4-2-6-2 تفاعل Xanthoproteique 23
4-2-6-3 تفاعل Sakaguchi 23
4-2-6-4 تفاعل Hopkins-Cole 23
4-2-6-5 تفاعل Buiret 23
4-2-6-6 الكشف عن الكبريت(S) 24

5- **الطرق الأنزيمية:**

5-1 المعاملة بـــ Trypsine 25
5-2 المعاملة بـــ Chymotrypsine 26
5-3 المعاملة بـــ Carboxypeptidase 29
5-4 المعاملة بـــ Pepsine 30
5-5 المعاملة بـــ Elastase 31

6- الطرق البيومعلوماتيية:

6-1 برنامج Rastop 32
6-2 برنامج Anagene 33

الفصل الثاني: الجزء العملي

I- الدراسة المخبرية

I-1- التحليل الكيميائي 34
I-1-1 التحليل الحامضي و القاعدي 34
I-1- 2 التفاعلات اللونية 36

I-2 التحليل الكروماتوغرافي 39
I-2-1 كروماتوغرافية الورقية النازلة 39
I-2-2 كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة 42
II- الدراسة البيومعلوماتية
II-1 معالجة المعطيات باستعمال برنامج Rastop 44
II-2 معالجة المعطيات باستعمال برنامج Anagene 48
III- النتائج
III-1-نتائج التحليل الكيميائي 52
III-2 نتائج التحليل الكروماتوغرافي..... 53
V- تحليل ومناقشة النتائج
V-1 - الطرق الكيميائية
*التحليل الكيميائي 55
*التفاعلات اللونية 56
V-2-التحليل الكروماتوغرافي..... 61
V-2-1 كروماتوغرافية الورقية النازلة..... 61
V-2-2 كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة 64
-الخاتمة
- قائمة المراجع
- الملحق

المقدمة:

تعتبر البروتينات من أهم المركبات الحيوية نظرا للدور الهام الـذي تلعبـه فـي العضوية، فهي مسؤولة عن مختلف الوظائف (تنفس،هضم،دوران.....)، و لفهـم هـذه الوظائف لابد من معرفة دقيقة للبروتينات.

البروتينات مركبات عضوية أزوتية، ذات وزن جزيئي عالي،تكون إما بنائية أو وظيفيـة، تتكون من ارتباط الأحماض الأمينية على شكل سلاسل ببتيدية.تتميز الأحماض الأمينيـة بمجموعتين وظيفيتين أمينية و أخرى كربوكسيلية مرتبطـة بـذرة كربـون α، يوجد في الطبيعة 300 حمض أميني، 20 منها معروفة تدخل في تركيـب البـروتين عنـد جميـع الكائنات الحية.

اهتم العديد من الباحثين بدراسة البروتينات، من حيث تركيبها الكيميائي، خصائصها الفيزيائية و الكيميائية ، معرفة بنيتها الفراغية، ترتيب وتسلسل الأحماض الأمينية .منـذ اكتشاف Sanger سنة (1955) لتتابع الأحماض الأمينية في بروتين الأنسولين، تطـورت الأبحاث و الدراسات و تعددت الطرق و الوسائل المستعملة للدراسة، حيـث اسـتعملت طرق فيزيائية: كالمطيافية، الهجرة الكهربائية، الكروماتوغرافية بأنواعها،طرق كيميائيـة منها الترسيب، التفاعلات اللونية ،بالإضافة لطرق إنزيمية.

ساعدت هذه التقنيات في توفير قدر كبير من المعطيات التي خزنت ضـمن بنـوك خاصة تسمى بنوك المعلومات المتوفرة على شبكة الانترنت، و مـن أجـل معالجـة و استغلال هذه المعلومات، استعملت برامج بيومعلوماتية حديثة مثل: Rastop و Anagene و غيرها.

شملت هذه الدراسة جزئيين:

- **<u>جزء نظري</u>**: يضم بعض العموميات عن البروتينـات و الطـرق المـستعملة لفـصل الأحماض الأمينية المكونة لها.

- **<u>جزء عملي</u>**: استعمال الهيموغلوبين كنموذج من البروتينات، للتحليل الكيميائي (القاعدي والحامضي) ،بالإضافة إلى مجموعة من التفاعلات اللونية. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة و كروماتوغرافيا النازلة كطرق فيزيائية، أما البيومعلوماتية فتمت دراسة الهيموغلـوبين باستعمال برنامج الـ Anagene و Rastop .