

مبانی و روش های

کروماتوگرافی و الکتروفورز

تالیف:

مهدی بابائی

(عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه

آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران)

حسین سلمانی زاده

(عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه

آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران)

ندا السادات سهی

سمیه غلامی



عنوان و نام پدیدآور	مبانی و روش‌های کروماتوگرافی و الکتروفورز / تألیف مهدی بابایی... [و دیگران]
مشخصات نشر	تهران: آوای فهم، ۱۳۹۲
مشخصات ظاهری	۱۸۰ص: مصور (بخشی رنگی)؛ جدول، نمودار
شابک	۹۷۸-۶۰۰-۶۸۱۰-۲۰-۱
وضعیت فهرست‌نویسی	فیبا
یادداشت	تألیف: مهدی بابایی، حسین سلیمانی‌زاده، نداالسادات سهی، سمیه غلامی
موضوع	کروماتوگرافی
موضوع	الکتروفورز
شناسه افزوده	بابایی، مهدی، ۱۳۶۳
رده‌بندی کنگره	۱۳۹۲م ۴۴/ک۴ QD۷۹
رده‌بندی دیویدی	۵۴۳/۸
شماره کتابشناسی ملی	۳۲،۹۲۱۸



تهران: خ توحید، خیابان فرصت شیرازی، بعد از تقاطع دکتر قریب، پلاک ۸۳، واحد ۸۱۰
تلفن: ۶۶۵۹۴۸۸۴ - ۹۱۲۳۱۸۱۰۰۴

مبانی و روش‌های کروماتوگرافی و الکتروفورز

تألیف: مهدی بابایی - حسین سلیمانی‌زاده - نداالسادات سهی - سمیه غلامی

© حق چاپ: ۱۳۹۲، انتشارات آوای فهم

نوبت چاپ: اول

مدیر تولید: محمد برخورداری

صفحه‌آرا: منیژه فاتحی

ناظر فنی چاپ: جواد فینی

شمارگان: ۱۱۰۰

بها: ۱۲۰۰۰۰ ریال

همه حقوق محفوظ است. هرگونه نسخه‌برداری، اعم از زیراکس و بازنویسی، ذخیره کامپیوتری، اقتباس کلی و جزئی (به جز اقتباس جزئی در نقد و بررسی، و اقتباس در گیومه در مستندنویسی، و مانند آنها) بدون مجوز کتبی از ناشر ممنوع و از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری است.

فهرست مطالب

۱۱	پیش گفتار
۱۳	بخش اول: مباحث نظری
۱۵	مقدمه
۱۷	فصل اول: مفاهیم اولیه پروتئومیکس
۱۷	جداسازی و شناسایی پروتئین‌ها
۱۸	آنالیزهای محاسباتی توالی پروتئین‌ها
۱۸	پروتئومیکس ساختاری
۱۸	پروتئومیکس بهمکنش‌ها (اینتراکتومیکس)
۱۸	شناسایی تغییرات پروتئین‌ها
۱۹	پروتئومیکس سلولی
۲۰	فصل دوم: خالص سازی
۲۰	ارزش خالص سازی
۲۱	تخلیص
۲۲	استراتژی تخلیص
۲۴	سه فاز استراتژی تخلیص
۲۵	تعیین خصوصیات پروتئین هدف و ناخالصی‌های آن
۲۵	انتخاب و ترکیب روش‌های خالص سازی
۲۶	جداسازی و تخلیص پروتئین‌ها
۲۸	انواع روش‌های مطالعه و تخلیص پروتئین‌ها
۳۰	فصل سوم: روش‌های تغلیظ و تعیین مقدار پروتئین
۳۰	ترسیب (Sedimentation)
۳۱	رسوب دهی به وسیله نمک
۳۱	رسوب دهی به وسیله حلال‌های آلی
۳۱	رسوب دهی به وسیله پلیمرهای آلی:
۳۳	دیالیز (dialysis)
۳۵	سانتریفوژ (Centrifugation)
۳۶	اسپکتروفتومتری (Spectrophotometry)

۳۸	پروتئین سنجی
۳۸	الف) پروتئین سنجی به روش لاورى (Lowry)
۴۰	ب) پروتئین سنجی به روش بیوره (Biuret)
۴۰	ج) پروتئین سنجی به روش کج‌دال (Kjeldahl)
۴۲	فصل چهارم: کروماتوگرافی
۴۴	انواع کروماتوگرافی
۴۶	کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون (Gel Filtration Chromatography)
۵۱	مراحل کار با ژل فیلتراسیون
۵۵	انواع بسترهای ژل کروماتوگرافی
۶۲	بازده در ژل فیلتراسیون
۶۲	اثر حجم نمونه تزریقی بر جداسازی و وضوح ستون ژل فیلتراسیون
۶۴	اثر سرعت فاز متحرک بر جداسازی و وضوح ستون ژل فیلتراسیون
۶۵	اثر ویسکوزیته نمونه بر جداسازی و وضوح ستون ژل فیلتراسیون
۶۶	عیب یابی و تجزیه و تحلیل نتایج در کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون
۶۸	کروماتوگرافی تعویض یونی (Ion Exchange Chromatography)
۷۱	مراحل کار با کروماتوگرافی تعویض یونی
۷۴	شستشو در کروماتوگرافی تعویض یونی
۷۷	کروماتوگرافی تعویض یونی آنیونی (AIEC)
۷۸	کروماتوگرافی تعویض یونی کاتیونی (CIEC)
۷۹	بازده در کروماتوگرافی تعویض یونی
۸۲	عیب یابی و تجزیه و تحلیل نتایج در کروماتوگرافی تعویض یونی
۸۳	کروماتوگرافی تمرکزی (Focusing Chromatography)
۸۴	کروماتوگرافی برهمکنش آبگریز (Hydrophobic Interaction Chromatography)
۸۵	نقش آب در کروماتوگرافی برهمکنش آبگریز
۸۶	تعاملات برگشت پذیر
۸۷	مراحل کار با کروماتوگرافی برهمکنش آبگریز
۹۰	شستشو در کروماتوگرافی برهمکنش آبگریز
۹۱	عیب یابی و تجزیه و تحلیل نتایج در کروماتوگرافی برهمکنش آبگریز
۹۳	کروماتوگرافی تمایلی (Affinity Chromatography)

۹۵	 مراحل کار با کروماتوگرافی تمایلی
۹۷	 مولکول‌های هدف در کروماتوگرافی تمایلی
۹۸	 شستشوی مولکول هدف در کروماتوگرافی تمایلی
۱۰۰	 عیب‌یابی و تجزیه و تحلیل نتایج در کروماتوگرافی تمایلی
۱۰۲	 کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)
۱۰۴	 مراحل خالص‌سازی با استفاده از چند روش کروماتوگرافی
۱۰۶	 فصل پنجم: الکتروفورز
۱۱۰	 مواد تسهیل‌کننده حلالیت پروتئین‌ها در الکتروفورز:
۱۱۱	 سدیم دودسیل سولفات پلی‌اکریل آمید ژل الکتروفورز (SDS-PAGE)
۱۱۳	 ساختمان ژل پلی‌اکریل آمید
۱۱۵	 انواع ژل‌های استفاده شده در الکتروفورز
۱۱۸	 انواع روش‌های الکتروفورز
۱۲۱	 انواع نمونه برای الکتروفورز
۱۲۴	 آماده‌سازی نمونه برای الکتروفورز
۱۲۵	 روش‌های آماده‌سازی نمونه برای الکتروفورز
۱۲۶	 محیط‌های جداسازی
۱۲۷	 انواع سیستم‌های بافری
۱۲۸	 انواع ژل در الکتروفورز
۱۳۰	 عوامل موثر در الکتروفورز
۱۳۱	 نقش بافر در الکتروفورز
۱۳۲	 SDS-PAGE اجزای دستگاه
۱۳۳	 عیب‌یابی در الکتروفورز
۱۳۵	 ایمنی در انجام الکتروفورز:
۱۳۶	 فصل ششم: تکنیک‌های رنگ‌آمیزی
۱۳۶	 رنگ‌آمیزی کوماسی بلو
۱۳۷	 رنگ‌آمیزی ایمیدازول - روی
۱۳۷	 رنگ‌آمیزی نیترات نقره
۱۳۹	 بخش دوم: مباحث عملی
۱۴۱	 فصل اول: آزمایش‌های تغلیظ و تعیین مقدار پروتئین

۱۴۱.....	کار با سمپلر:
۱۴۲.....	کار با کیسه دیالیز:
۱۴۳.....	آماده‌سازی کیسه دیالیز خشک
۱۴۴.....	تغلیظ با PEG
۱۴۵.....	ترسیب با سولفات آمونیوم
۱۴۵.....	اندازه‌گیری پروتئین به روش لوری
۱۴۷.....	اندازه‌گیری پروتئین به روش بیوره
۱۴۷.....	اندازه‌گیری پروتئین به روش کج‌لدال
۱۵۱.....	فصل دوم: روش انجام کروماتوگرافی
۱۵۱.....	تهیه و آماده‌سازی ژل‌های سفادکس از بودر آن
۱۵۳.....	آماده‌سازی و ساخت یک ستون کروماتوگرافی
۱۵۴.....	تعیین حجم تهی و حجم نهایی در کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون
۱۵۸.....	تهیه نمونه برای انواع کروماتوگرافی
۱۵۹.....	طریقه نمونه‌گذاری در ستون‌های کروماتوگرافی
۱۶۱.....	بافرهای مورد استفاده در کروماتوگرافی تعویض یونی آنیونی
۱۶۱.....	بافرهای مورد استفاده در کروماتوگرافی تعویض یونی کاتیونی
۱۶۲.....	کروماتوگرافی برهمکنش آگریز
۱۶۳.....	کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا
۱۶۴.....	فصل سوم: روش انجام الکتروفورز
۱۶۴.....	محلول‌های لازم جهت آماده‌سازی ژل SDS-PAGE
۱۶۷.....	طریقه آماده‌سازی ژل و کار بادستگاه SDS-PAGE
۱۷۳.....	فصل چهارم: رنگ آمیزی ژل
۱۷۳.....	روش رنگ آمیزی با کوماسی آبی
۱۷۵.....	روش رنگ آمیزی با ایمیدازول - روی
۱۷۷.....	روش رنگ آمیزی با نیترات نقره
۱۸۰.....	منابع و مآخذ

پیش‌گفتار

با پیشرفت روز افزون جهان، تحقیق و بررسی در مورد موجودات زنده و مکانیسم های دخیل در بدن آنها اهمیت بسزایی پیدا می کند. وقتی صحبت از موجود زنده می شود، واکنش های بیوشیمیایی مطرح می شوند، که به واسطه مولکول ها و ماکرومولکول ها، اتفاق می افتد. از اینرو اولین قدم در مطالعه موجودات زنده مختلف، در همه علوم زیستی، آشنایی با مولکول ها و ماکرومولکول های حیاتی است. توجه به اصول پایه بیوشیمی و درک مسائل مربوطه می تواند نقش مهمی را در فراگیری علوم پایه داشته باشد. برای این منظور استفاده از کتابی که به روشنی به مسائل پایه و آزمایشگاهی پرداخته باشد، می تواند بسیار مفید باشد. کتاب حاضر به بررسی چند روش از معتبرترین روش های آزمایشگاهی خالص سازی مولکول های زیستی می پردازد. بسیاری از مطالب این کتاب از تجربیات و تحقیقات مولفین نشأت گرفته است که نمونه آن در کتب دیگر یافت نمی شود. هدف اصلی نگارش این کتاب کاربرد روش های مفید و عملی برای استفاده تحقیقاتی و آزمایشگاهی دانشجویان و محققان علوم زیستی بویژه محققان بیوشیمی و علوم سلولی مولکولی می باشد.

کتاب مبانی و روش های کروماتوگرافی و الکتروفورز از دو قسمت کلی تشکیل شده است. در قسمت اول به کلیات و تعاریف پایه تمرکز دارد و در قسمت دوم به پیاده سازی روش های خالص سازی در مقیاس آزمایشگاهی می پردازد. از خصوصیات برجسته این کتاب توجه دقیق به روش های آزمایشگاهی و استفاده از تصاویر رنگی در موارد مهم می باشد که به درک مطالب کمک شایانی می کند.

در خاتمه لازم می دانم از عزیزانی که ما را در تهیه این کتاب یاری کردند، تشکر و قدردانی نمایم. امید است که نشر این کتاب مورد استفاده دانشجویان و پژوهشگران بویژه در رشته های علوم زیستی قرار گیرد.

مهدی بابائی و همکاران