

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

محدث سب پروتئین

دکتر فاطمه یزدیان (هیئت علمی دانشگاه تهران)
سمیه صادقی (دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی پزشکی انستیتور پاستور ایران)
دکتر مرگان شیخ پور (دکترای تخصصی ژنتیک ملکولی)



انتشارات قدیس

WWW.Qeddis.com

سرشناسه	:	یزدیان، فاطمه، ۱۳۵۷ -
عنوان و نام پدیدآور	:	مهندسی پروتئین/ فاطمه یزدیان، سمیه صادقی، مژگان شیخ پور.
مشخصات نشر	:	تهران: قدیس، ۱۳۹۵.
مشخصات ظاهری	:	۲۱۸ ص.: مصور، جدول.
شابک	:	۳۰۰۰۰۰ ریال: 978-600-8050-07-0
وضعیت فهرست نویسی	:	فیبا
یادداشت	:	کتابنامه: ص. ۲۱۸.
موضوع	:	مهندسی پروتئین
موضوع	:	پروتئین -- تصفیه
موضوع	:	پروتئین -- تجزیه و آزمایش
شناسه افزوده	:	صادقی، سمیه، ۱۳۶۶ -
شناسه افزوده	:	شیخ پور، مژگان، ۱۳۵۴ -
رده بندی کنگره	:	۱۳۹۵ / ۲۴۸ / ۶۵TP / ۴۹۵
رده بندی دیویی	:	۶۶۰ / ۶۳
شماره کتابشناسی ملی	:	۴۳۰۶۵۳



انتشارات قدیس

مهندسی پروتئین

فاطمه یزدیان، سمیه صادقی - مژگان شیخ پور

ناشر: قدیس

صفحه رای: قدیس

لیتوگرافی، چاپ و صحافی: نشر قدیس

نوبت و سال چاپ: اول، ۱۳۹۵

شمارگان: ۵۰۰ نسخه

قیمت: ۲۰۰۰۰ تومان

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۸۰۵۰۰۰۷-۰

حق چاپ محفوظ و منحصرأ مخصوص ناشر است.

دفتر مرکزی و مرکز پخش:

نشر قدیس: تهران، خیابان انقلاب، خیابان ۱۲ فروردین، پایین تر از وحید نظری، بن بست حقیقت، پلاک ۴ واحد ۵

تلفن: ۶۶۴۰۳۵۴۸-۶۶۴۱۱۳۸۱-۶۶۷۱۵۲۵۵

کتابفروشی الیاس: تهران، خیابان انقلاب، نبش خیابان ۱۲ فروردین، پلاک ۱۳۱۰

تلفن: ۶۶۴۰۵۰۸۴

فهرست مطالب

فصل اول / به اختصار و عملکرد پروتئین ۱۳

۱۴	۱-۱ مقدمه
۱۵	۲-۱ میانکنش های غیر کوانتان در ساختار پروتئین
۱۵	۳-۱ ساختارهای پروتئینی
۱۵	۱-۳-۱ ساختار اول پرپپتید
۱۶	۲-۳-۱ ساختار دوم پروتئین
۱۶	۱-۲-۳-۱ مارپیچ ها
۱۷	۲-۲-۳-۱ صفحات بتا
۱۸	۳-۳-۱ ساختار سوم پروتئین
۱۹	۴-۳-۱ ساختار چهارم پروتئین
۲۱	۵-۳-۱ تاخوردگی پروتئین
۲۲	۶-۳-۱ طراحی ساختار پروتئین
۲۲	۱-۶-۳-۱ تعیین ساختار پروتئین
۲۴	۷-۳-۱ تنظیم عملکرد پروتئین
۲۴	۱-۷-۳-۱ منابع پروتئینی مختلف
۲۶	۴-۱ الکتروفورز دوبعدی
۲۶	۵-۱ کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون
۲۶	۶-۱ کروماتوگرافی تعویض یونی
۲۶	۷-۱ کروماتوگرافی تمایلی
۲۷	۸-۱ برخی از روش های شناسایی پروتئین ها
۲۷	۱-۸-۱ روش های آنزیمی نشر دهنده نور و رنگ زا
۲۷	۲-۸-۱ سنجش آنتی بادی
۲۸	۳-۸-۱ وسترن بلات
۲۸	۴-۸-۱ استفاده از رادیو ایزوتوپ ها برای شناسایی پروتئین

فصل دوم / روش ها و کاربردهای مهندسی پروتئین..... ۲۹

۳۰	۱-۲ مقدمه.....
۳۱	۱-۱-۲ جهش های نقطه ای.....
۳۱	۲-۱-۲ جهش های حذفی.....
۳۱	۳-۱-۲ پروتئین های هیبرید.....
۳۱	۲-۲ روش های مهندسی پروتئین.....
۴۲	۳-۲ کاربردهای مهندسی پروتئین.....
۴۲	۱-۳-۲ کاربردهای صنعت غذایی و دترجنت.....
۴۶	۲-۳-۲ کاربردهای محیطی.....
۴۸	۳-۳-۲ کاربردهای پزشکی.....
۵۰	۴-۳-۲ کاربرد برای تولید بیوپلیمر.....
۵۰	۵-۳-۲ کاربردهای نانوبیوتکنولوژی.....
۵۲	۳-۲ کاربردهای پروتئین ها و آنزیم های ردوکس.....
۵۲	۷-۳-۲ کاربرد آنزیم های صنعتی.....
۵۳	۸-۳-۲ سایر کاربردهای نس.....
۵۵	۴-۲ نتیجه گیری.....

فصل سوم / کاربردهای مهندسی پروتئین در تولید آنزیم های صنعتی..... ۵۷

۵۸	۱-۳ مقدمه.....
۵۹	۲-۳ روش های مهندسی پروتئین.....
۶۰	۱-۲-۳ طراحی منطقی.....
۶۲	۲-۲-۳ تکامل جهت دار.....
۶۳	۳-۲-۳ "طراحی نیمه منطقی-جهش زایی اشیاعیت جایگاه".....
۶۳	۳-۳ فرمات دهیدروناز وابسته به NAD^+ در مخمر کاندیدا متلیکا.....
۶۷	۱-۳-۳ خصوصیات سینتیکی و ترمودینامیکی تاخوردگی و مونتاژ آنزیم cmFDH.....
۶۹	۲-۳-۳ احیای کوآنزیم.....
۷۳	۴-۳ مطالعات مهندسی پروتئین در خصوص cmFDH.....
۷۳	۱-۴-۳ افزایش مقاومت به حرارت.....
۷۵	۱-۱-۴-۳ مدل سازی همولوژی cmFDH.....
۷۶	۲-۱-۴-۳ بهینه سازی میانکنش های الکترواستاتیک بر روی سطح آنزیم cmFDH.....
۷۷	۳-۱-۴-۳ ایجاد پیوندهای دیسولفیدی درون ساختار cmFDH.....
۸۰	۲-۴-۳ تغییر اختصاصیت کوآنزیم.....
۸۱	۵-۳ نتیجه گیری.....
۸۲	۱-۵-۳ نقش کوآنزیم ها در کاتالیز آنزیمی.....

۸۲	۲-۵-۳ نوکلئیدهای نیکوتین آمید (NAD^+ و $NADP^+$)
۸۳	۳-۵-۳ فلاوین نوکلئوتیدها (FAD و FMN)
۸۳	۴-۵-۳ آدنوزین فسفات‌ها (ATP, ADP و AMP)
۸۳	۵-۵-۳ پیریدوکسال فسفات
۸۴	۶-۵-۳ کوآنزیم B_{12}
۸۴	۷-۵-۳ بیوتین
۸۴	۸-۵-۳ تراهییدروفولات
۸۵	۹-۵-۳ کوآنزیم A ($CoA-SH$)
۸۵	۱۰-۵-۳ تیامین پیروفسفات (TPP)

فصل چهارم / کاربرد مهندسی پروتئین در درمان بیماری‌های التهابی..... ۸۷

۸۸	۱-۴ مقدمه
۸۸	۱-۱-۴ بیماری‌های التهابی
۸۹	۲-۱-۴ سیموکاین سرکوب کننده ایمنی IL-10
۸۹	۱-۲-۱-۴ اثرات ایمنوژنیک/زیستی
۹۰	۲-۲-۱-۴ ساختار
۹۱	۳-۱-۴ هدف قراردادی پروتئین‌های فعال در سیستم ایمنی
۹۱	۱-۳-۱-۴ آنتی‌بادی‌ها و scTV
۹۲	۲-۳-۱-۴ مزایای هدف‌گیری کردن آنتی‌بادی‌ها به محدود شده به MHC با استفاده از TCR
۹۳	۳-۳-۱-۴ "مهندسی تمایل"
۹۴	۴-۱-۴ سیستم مدل 3.L2 و TCR M15 در ایجاد تغییرات در سطح نمایش سطح مخمر مهندسی شده است
۹۴	۱-۴-۱-۴ مهندسی TCR به منظور ایجاد پایداری در "حش‌های متغیر تک‌زنجیره TCR محلول (scTV)"
۹۴	۲-۴-۱-۴ مهندسی به منظور ایجاد تمایل اتصال بالا به $Hb/I-E^K$
۹۵	۵-۱-۴ مولکول‌های اتصال دهنده IL-10 به M15
۹۵	۲-۴ روش‌ها
۹۵	۱-۲-۴ کلونینگ، تولید و تخلیص scTV M15 و فیوژن‌های IL-10:M15
۹۷	۲-۲-۴ روش الیزا برای IL-10
۹۷	۳-۲-۴ اتصال اختصاصی به سلول‌های بارگیری‌شده با پپتید
۹۸	۴-۲-۴ سنجش تکثیر MC/9
۹۸	۵-۲-۴ مهار فعال‌سازی سلول T از طریق sc TV محلول
۹۹	۳-۴ نتایج
۹۹	۱-۳-۴ کلونینگ، بیان و تخلیص فیوژن‌های IL-10:M15
۱۰۱	۲-۳-۴ شناسایی از طریق الیزای IL-10
۱۰۲	۱-۲-۳-۴ سازه‌هایی با IL-10 انسانی تولیدشده در ایکولی
۱۰۲	۲-۲-۳-۴ سازه‌هایی با IL-10 انسانی تولیدشده در سلول‌های خشره

۱۰۳	۳-۲-۳-۴	سازه‌هایی با IL-10 موشی
۱۰۳	۳-۳-۴	اتصال اختصاصی به سلول‌های ارائه‌دهنده پپتید هدف
۱۰۳	۱-۳-۳-۴	تشخیص اتصال sc TV از طریق IL-10
۱۰۵	۴-۳-۴	آزمایشات عملکردی sc TV M15 و فیوزن‌های IL-10
۱۰۵	۱-۴-۳-۴	مهار مستقیم فعال‌سازی سلول T از طریق sc TV M15 محلول
۱۰۶	۲-۴-۳-۴	تکثیر القاشده‌ی رده سلولی وابسته به سایتوکاین (MC/9)
۱۰۷	۴-۴	نتیجه‌گیری

فصل پنجم / چشم انداز مهندسی پروتئین در حسگرهای زیستی

۱۱۲	۱-۵	مقدمه
۱۱۲	۱-۱-۵	عملکرد MBP در ایکولی
۱۱۴	۲-۵	مهندسی پروتئین به منظور فهم عملکرد MBP
۱۱۴	۱-۵	بررسی تعادل باز-بسته در عملکرد MBP
۱۱۵	۲-۲-۵	استفاده از مشتقات جهش یافته در مطالعه ساختار-عملکرد پروتئین
۱۱۶	۳-۲-۵	بررسی تاخوردایی و بازشدگی از طریق جهش
۱۱۷	۳-۵	اتصال مهندسی شده
۱۱۷	۱-۳-۵	مشتقات MBP با بایل آررال بالا
۱۱۷	۱-۱-۳-۵	جهش‌زایی اختصاری بر اساس ساختارهای باز-بسته
۱۱۹	۲-۱-۳-۵	جهش‌زایی تصادفی برابر دست آوردن جهش یافته‌های با تمایل اتصال بیشتر
۱۱۹	۲-۳-۵	تغییر تمایل اتصال: اتصال به روی (Zn)
۱۲۰	۴-۵	MBP به عنوان حسگر زیستی
۱۲۱	۱-۴-۵	حسگرهای زیستی فلورسنت با یک گزارشگر فلورسنت
۱۲۲	۲-۴-۵	حسگرهای FRET
۱۲۲	۱-۲-۴-۵	حسگرهای FRET مربوط به ترکیب MBP
۱۲۳	۲-۲-۴-۵	حسگرهای FRET نشان‌دار شده با رنگ
۱۲۴	۳-۲-۴-۵	حسگرهای FRET "کوانتوم دات"
۱۲۴	۴-۲-۴-۵	حسگرهای تثبیت شده‌ی FRET
۱۲۵	۳-۴-۵	حسگرهای آنزیمی
۱۲۶	۴-۴-۵	حسگرهای الکتروشیمیایی
۱۲۷	۵-۴-۵	حسگر AFM
۱۲۷	۶-۴-۵	حسگرهای زیستی با استفاده از MBP به عنوان داربست
۱۲۸	۵-۵	مهندسی فیوزن MBP
۱۲۸	۱-۵-۵	تولید پپتید
۱۲۹	۲-۵-۵	بررسی افزایش حلالیت
۱۳۰	۳-۵-۵	تعیین ساختار فیوزن‌های MBP

فصل ششم / کاربرد مهندسی پروتئین از طریق انتقال اسید آمینه به درون پروتئین

نوترکیب..... ۱۳۱

- ۱-۶ مقدمه..... ۱۳۲
- ۲-۶ روش‌های موجود برای ورود آمینو اسیدهای غیرطبیعی به درون پروتئین‌ها..... ۱۳۳
- ۱-۲-۶ روش‌های تکامل aaRS و tRNAها برای NNAAها..... ۱۳۵
- ۱-۱-۲-۶ انتخاب منفی/مثبت..... ۱۳۶
- ۲-۱-۲-۶ انتخاب مبتنی "بر پروتئین فلوئورسنت سبز (GFP)"..... ۱۳۹
- ۳-۱-۲-۶ انتخاب مبتنی بر نمایش سطح..... ۱۳۹
- ۴-۱-۲-۶ طراحی منطقی برای انتخاب..... ۱۴۰
- ۲-۲-۶ روش‌های برای ورود NNAAها درون پروتئین‌های نوترکیب..... ۱۴۱
- ۲-۲-۶ کدون سنس مجدداً تخصیص یافته..... ۱۴۱
- ۲-۲-۲-۶ "کدن وبل"..... ۱۴۳
- ۳-۲-۲-۶ تمایز کدیف..... ۱۴۵
- ۴-۲-۲-۶ کدون توقف..... ۱۴۶
- ۵-۲-۲-۶ کدون دارای چهار جفت ر یا جفت‌باز غیرطبیعی..... ۱۴۹
- ۶-۲-۲-۶ کدون تخصیص‌یافت در مول‌های مصنوعی..... ۱۵۱
- ۷-۲-۲-۶ ریبوزوم متعامد..... ۱۵۲
- ۳-۶ واکنش‌های شیمیایی متعامد در زنجیره جانبی اسیدهای آمینه غیرطبیعی..... ۱۵۳
- ۱-۳-۶ افزایش حلقه آلکین-آزید کاتالیز شده با مس..... ۱۵۴
- ۲-۳-۶ افزایش حلقه آلکین-آزید به کمک گونه..... ۱۵۷
- ۳-۳-۶ شیمی گروه کربونیل..... ۱۵۹
- ۴-۳-۶ "اتصال استودینگر"..... ۱۶۱
- ۵-۳-۶ سایر واکنش‌ها..... ۱۶۳
- ۱-۵-۳-۶ فقدان فلز..... ۱۶۳
- ۲-۵-۳-۶ کاتالیز با فلز..... ۱۶۵
- ۴-۶ کاربردهای بالقوه پروتئین‌های مهندسی شده با آمینو اسیدهای غیرطبیعی..... ۱۶۶
- ۱-۴-۶ عوامل درمانی پروتئینی..... ۱۶۶
- ۱-۱-۴-۶ ایجاد تغییر برای بهبود خواص فارماکوکینتیکی..... ۱۶۷
- ۲-۱-۴-۶ ترکیبات پروتئینی با دو اختصاصیت..... ۱۶۹
- ۳-۱-۴-۶ ترکیبات آنتی‌بادی-دارو و رادیوایمونو ترکیبات..... ۱۷۰
- ۴-۱-۴-۶ واکنش‌های سرطان..... ۱۷۱
- ۲-۴-۶ تکامل عملکردی پروتئین‌ها با NNAAها..... ۱۷۲
- ۵-۶ نتیجه گیری..... ۱۷۳

فصل هفتم / عملکرد فناوری تخمیر بر پایه تکنولوژی مهندسی پروتئین ۱۷۵

۱۷۶	۱-۷	مقدمه
۱۷۷	۲-۷	مهندسی پروتئین PsXDH
۱۷۷	۱-۲-۷	تغییر اختصاصیت کوآنزیم به سمت $NADP^+$
۱۷۷	۱-۱-۲-۷	راهبرد طراحی جهش یافته
۱۸۰	۲-۱-۲-۷	جهش یافته D207A/I208R
۱۸۱	۳-۱-۲-۷	جهش یافته D207A/I208R/F209S
۱۸۲	۴-۱-۲-۷	جهش یافته D207A/I208R/F209S/N211R
۱۸۳	۵-۱-۲-۷	اهمیت آنزیم (های) مرجع
۱۸۴	۲-۲-۷	پایدارسازی به دما
۱۸۴	۱-۱-۲-۷	راهبرد طراحی جهش یافته
۱۸۴	۲-۱-۲-۷	ورود روی ساختاری
۱۸۵	۳-۲-۱-۷	پایدارسازی به دما برای جهش یافته‌های وابسته به $NADP^+$
۱۸۷	۴-۲-۲-۷	بهینه سازی لوب اتصال به روی ساختاری
۱۸۸	۳-۷	مهندسی پروتئین PsXR
۱۸۹	۱-۳-۷	تغییر اختصاصیت کوآنزیم به سمت NADH
۱۸۹	۱-۱-۳-۷	راهبرد طراحی جهش یافته
۱۹۰	۲-۱-۳-۷	شناسایی جهش-یافته‌ها
۱۹۱	۲-۳-۷	تغییر اختصاصیت کوآنزیم به سمت NAD^+
۱۹۲	۴-۷	تخمیر زایلوز توسط ساکارومایسس سرویز با استفاده از XDH و/یا XR جهش یافته
۱۹۳	۱-۴-۷	غربال‌گری جهش-یافته‌های XDH و XR
۱۹۳	۲-۴-۷	کدام یک از تغییرات بین XDH و XR بهتر است؟
۱۹۳	۳-۴-۷	ایجاد سویه ساکارومایسس سرویز به کارایی بیشتر
۱۹۴	۵-۷	نتیجه‌گیری

فصل هشتم / روش‌های تولید و تخلیص پروتئین ۱۹۷

۱۹۸	۱-۸	مقدمه
۱۹۹	۲-۸	مراحل تخلیص پروتئین
۱۹۹	۱-۲-۸	جدا کردن سلول‌ها
۲۰۰	۲-۲-۸	شکستن سلول و جدا کردن پیکره
۲۰۲	۳-۲-۸	تغلیظ: اولترافیلتراسیون و دیافیلتراسیون
۲۰۲	۴-۲-۸	نیمه خالص سازی
۲۰۳	۵-۲-۸	روش‌های تخلیص با تفکیک بالا
۲۰۸	۳-۸	انواع آلاننده‌های پروتئین

۲۰۸	DNA ۱-۳-۸
۲۰۸	 پروتئین ۲-۳-۸
۲۰۹	 توده‌ای یا تجزیه شدن محصولات ۳-۳-۸
۲۰۹	 تب زها ۴-۳-۸
۲۱۰	 ویروس‌ها ۵-۳-۸
۲۱۱	 نشت لیگاند متصل از ستون ۶-۳-۸
۲۱۱	 مهندسی پروتئین‌ها به منظور تخلیص ۴-۸
۲۱۱	 طراحی پروتئین‌های فوزان ۱-۴-۸
۲۱۲	 هیدرولیز پپتیدهای فوزان ۲-۴-۸
۲۱۴	 فوزان برای پایداری ۳-۴-۸
۲۱۵	 فوزان برای تخلیص ۴-۴-۸
۲۱۶	 سنتس پروتئین فوزان ۵-۴-۸
۲۱۶	 نتیجه‌گیری ۵-۸