

# اصول و روش‌های کاربردی در تخلیص پروتئین‌های طبیعی و نو ترکیب

ویرایش دوم

تألیف:

دکتر رضا فاک: آشپار ایمونولوژی  
دکتر کبری مختاریان: استادیار انگل‌شناسی

با همکاری:

دکتر علی اکبر دلبندی: استادیار ایمونولوژی

دکتر رضا احمدی: استادیار بیوشیمی

فرشته سادات رائی ورعی

فاطمه سادات محمدی

مریم وکیلی مقدم

ندا محمدی



|                     |                                                                                                                                  |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| سرشناسه             | فلک، رضا، ۱۳۵۰                                                                                                                   |
| عنوان و نام پدیدآور | اصول و روش‌های کاربردی در تخلیص پروتئین‌های طبیعی و نوترکیب/تألیف رضا فلک، کبری مختاریان، با همکاری علی‌اکبر دلبندی...[و دیگران] |
| مشخصات نشر          | تهران: انتشارات حیدری، وزین مهر، ۱۳۹۶                                                                                            |
| شابک                | ۹۷۸-۶۰۰-۴۸۹-۰۴۱-۰                                                                                                                |
| وضعیت فهرست نویسی   | فیبا                                                                                                                             |
| یادداشت             | با همکاری علی‌اکبر دلبندی، رضا احمدی، فاطمه‌سادات محمدی، فرشته‌سادات رائی‌ورعی، مریم وکیلی‌مقدم، ندا محمدی                       |
| موضوع               | پروتئین - تصفیه Purification - Proteins نوترکیبی پروتئین‌ها-Recombinant proteins                                                 |
| شناسه افزوده        | مختاریان، کبری، ۱۳۵۳                                                                                                             |
| شناسه افزوده        | دلبندی، علی‌اکبر، ۱۳۵۳                                                                                                           |
| رده بندی کنگره      | ۱۳۹۶ ۱۶الف/۸ QP551                                                                                                               |
| رده بندی دیویی      | ۵۴۷/۷۵                                                                                                                           |
| شماره کتابشناسی ملی | ۴۹۰۷۴۶۲                                                                                                                          |

### اصول و روش‌های کاربردی در تخلیص پروتئین‌های طبیعی و نوترکیب

|                 |                                                                                                                           |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| مؤلفین:         | رضا فلک، کبری مختاریان- علی اکبر دلبندی- رضا احمدی- فاطمه سادات محمدی- فرشته سادات رائی ورعی- مریم وکیلی مقدم - ندا محمدی |
| ناشر            | نشر حیدری / نشر وزین مهر                                                                                                  |
| نوبت و سال چاپ: | اول ۱۳۹۶                                                                                                                  |
| شمارگان:        | ۱۰۰۰ نسخه                                                                                                                 |
| چاپ و صحافی:    | غزال                                                                                                                      |
| شابک :          | ۹۷۸-۶۰۰-۴۸۹-۰۴۱-۰                                                                                                         |
| بهاء:           | ۲۷۰۰۰ تومان                                                                                                               |



این اثر، مشمول قانون حمایت از مؤلفان و مصنفان، هنر، دارایی است. هر کس تمام یا قسمتی از این اثر را بدون اجازه مؤلف (ناشر)، منتشر یا پخش کند مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.

### مراکز پخش

- دفتر مرکزی: خیابان انقلاب، خیابان ۱۲ فروردین، خیابان شهدای زاندارمری غربی، روبروی اداره پست، ۱۲، طبقه اول، واحد ۲ تلفن: ۶۶۹۷۶۶۷۸ - ۶۶۹۷۶۴۹۹
- فروشگاه ۱: خیابان انقلاب، روبروی دانشگاه، پاساز فروزنده، طبقه همکف، پلاک ۳۲۳ تلفن: ۶۶۴۹۲۷۸۶ - ۶۶۴۹۲۱۴
- فروشگاه ۲: خیابان انقلاب، روبروی دانشگاه، پاساز فروزنده، طبقه همکف، پلاک ۳۰۸ تلفن: ۶۶۴۷۸۹۴۷
- فروشگاه ۳: خیابان انقلاب، بین ۱۲ فروردین و فخر رازی، روبروی نشر جیحون، فروشگاه کتب پزشکی، ۶۶۴۹۲۱۴
- فروشگاه ۴: قلهک، خیابان زرگنده، دانشگاه آزاد اسلامی، کتابفروشی دانشگاه تلفن: ۲۲۶۲۲۶۰۵
- فروشگاه ۵: اراک، میدان سرداران، جنب بیمارستان ولی عصر مجتمع پارس، فروشگاه کتاب ونوس - تلفن: ۲۲۴۶۳۵۷ - ۸۶۳
- فروشگاه ۶: بجنورد، خیابان ۱۷ شهربور جنوبی، نبش کوچه پرتانی، پلاک ۳۱۳، فروشگاه نشر حیدری، تلفن ۳۲۲۶۳۵۵۸ - ۵۸
- فروشگاه ۷: خرم‌آباد، دانشگاه علوم پزشکی کمالوند- فروشگاه نشر حیدری تلفن: ۲۲۳۴۸۸۳ - ۸۶۳
- و کتابفروشی‌های معتبر سراسر کشور

## فهرست مطالب

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| فهرست مطالب.....                                                            | ۵  |
| فهرست جداول.....                                                            | ۱۵ |
| فهرست اشکال.....                                                            | ۱۶ |
| آغاز سخن.....                                                               | ۱  |
| سخن استاد پیشکسوت.....                                                      | ۱  |
| ۱. اصول مقدماتی استخراج پروتئین‌های طبیعی و نو ترکیب و تعیین هویت آنها..... | ۱  |
| ۱. پروتئین‌ها و اهمیت آنها.....                                             | ۱  |
| ۱. تاریخچه استخراج پروتئین‌ها.....                                          | ۱  |
| ۲. نگاهی به گذشته و روش‌های تخلیص پروتئین‌ها.....                           | ۲  |
| ۴. میزان خلوص بازایافته تخلیص.....                                          | ۴  |
| ۶. نگارش و ثبت مراحل تخلیص.....                                             | ۶  |
| ۶. منابع استخراج پروتئین.....                                               | ۶  |
| ۹. شناسایی پروتئین تخلیص شده و اندازه‌گیری فعالیت آن.....                   | ۹  |
| ۱۰. مراجع.....                                                              | ۱۰ |
| ۲. تهیه عصاره خام پروتئینی.....                                             | ۱۱ |
| ۱۱. روش‌های لیز کردن سلول‌ها و هموژنیزه کردن بافت.....                      | ۱۱ |
| ۱۱. لیز کردن سلول‌ها با فریز و دفریز کردن.....                              | ۱۱ |
| ۱۳. لیز کردن با امواج ماوراء صوت.....                                       | ۱۳ |
| ۱۴. لیز کردن و هموژنیزه کردن تحت فشار.....                                  | ۱۴ |
| ۱۵. هموژنیزه کردن با سایر روش‌های مکانیکی.....                              | ۱۵ |
| ۱۵. هموژنایزرهای روتور استاتور.....                                         | ۱۵ |
| ۱۶. هموژنایزرهای تیغه‌ای.....                                               | ۱۶ |
| ۱۶. مراجع.....                                                              | ۱۶ |
| ۳. دترجنت‌ها.....                                                           | ۱۷ |
| ۱۷. تفاوت دترجنت‌ها و لیپیدها.....                                          | ۱۷ |
| ۱۸. نقش گروه هیدروفیل بر عملکرد دترجنت‌ها.....                              | ۱۸ |
| ۱۹. نقش گروه هیدروفوب بر عملکرد دترجنت‌ها.....                              | ۱۹ |

|    |                                                 |
|----|-------------------------------------------------|
| ۱۹ | غشاءهای بیولوژیک                                |
| ۲۰ | نحوه حل شدن پروتئین‌های غشایی در دترجنت‌ها      |
| ۲۱ | نسبت دترجنت به لیپید و پروتئین                  |
| ۲۲ | طبقه بندی دترجنت‌ها                             |
| ۲۲ | دترجنت‌های یونی                                 |
| ۲۳ | نمک‌های اسیدهای صفراوی                          |
| ۲۳ | دترجنت‌های غیر یونی                             |
| ۲۵ | دترجنت‌های زوئتریونی (زوئترجنت)                 |
| ۲۵ | ویژگی‌های عمومی دترجنت‌ها                       |
| ۲۵ | تشکیل میسل                                      |
| ۲۵ | غذایت بحرانی تشکیل میسل (CMC)                   |
| ۲۶ | اثرات گروه‌های هیدروکسیل و هیدروکربن بر روی CMC |
| ۲۷ | اثرات الکترولیت‌ها بر روی CMC                   |
| ۲۸ | نقطه کرافت                                      |
| ۲۸ | نقطه ابر                                        |
| ۳۰ | عدد اگرینگاسون                                  |
| ۳۰ | تعادل هیدروفیل - لیوفیل (HLB)                   |
| ۳۲ | حذف دترجنت‌های متصل نشده                        |
| ۳۲ | ۱- جنب هیدروفوبی                                |
| ۳۲ | ۲- ژل کروماتوگرافی                              |
| ۳۲ | ۳- دیالیز                                       |
| ۳۳ | ۴- کروماتوگرافی تعویض یونی                      |
| ۳۳ | راهنمای انتخاب دترجنت                           |
| ۳۴ | سولفونائین‌های غیر دترجنت                       |
| ۳۵ | استخراج پروتئین‌ها از غشای سلول                 |
| ۳۵ | محلول سازی غشاء                                 |
| ۳۶ | ملاحظات عملی هنگام استفاده از دترجنت‌ها         |
| ۳۷ | سورفکتانت‌های غیر دترجنتی و دترجنت‌های جدید     |
| ۳۸ | سیستم‌های غشایی مدل                             |
| ۳۹ | جمع بندی مطالب این فصل                          |
| ۴۰ | مراجع                                           |

|    |                                                                |
|----|----------------------------------------------------------------|
| ۴۱ | روش‌های رایج تخلیص پروتئین‌ها                                  |
| ۴۱ | روش‌های مبتنی بر خصوصیات سطحی پروتئین‌ها                       |
| ۴۲ | روش‌های مبتنی بر ساختمان کامل پروتئین‌ها                       |
| ۴۲ | روش‌های مبتنی بر بار الکتریکی پروتئین‌ها                       |
| ۴۳ | روش‌های مبتنی بر خصوصیات بیولوژیک و تمایلی پروتئین‌ها          |
| ۴۴ | بررسی خصوصیات محصول تخلیص شده                                  |
| ۴۴ | اصول راه‌اندازی یک آزمایشگاه تخلیص پروتئین و تجهیزات مورد نیاز |
| ۴۵ | تجهیزات عصاره‌گیری و هموژنیزاسیون                              |
| ۴۵ | تجهیزات کروماتوگرافی                                           |
| ۴۶ | تجهیزات راسیون و تغلیظ پروتئین                                 |
| ۴۷ | بررسی خلوص نهایی عصاره                                         |
| ۴۸ | مراجع                                                          |
| ۴۹ | ۵. طبقه‌بندی پروتئین‌ها بر اساس کاربرد آن در تخلیص             |
| ۴۹ | طبقه‌بندی پروتئین‌ها بر اساس عملکرد بیولوژیک                   |
| ۵۰ | طبقه‌بندی پروتئین‌ها بر اساس شکل، طعم و الگوی هیدروپاتی        |
| ۵۳ | نگاهی ویژه به پروتئین‌های غشاء                                 |
| ۵۶ | سایر تفاوت‌های پروتئین‌ها                                      |
| ۵۷ | پروتئین‌های اولیگومر و پلیمر                                   |
| ۵۸ | حلالیت پروتئین‌ها و اهمیت آن در تخلیص                          |
| ۵۹ | مراجع                                                          |
| ۶۱ | ۶. تخلیص پروتئین‌ها بر اساس محل استقرار و حلالیت‌ساز           |
| ۶۱ | تخلیص پروتئین‌های طبیعی                                        |
| ۶۱ | تخلیص پروتئین‌های طبیعی خارج سلولی                             |
| ۶۲ | تخلیص پروتئین‌های طبیعی داخل سلولی یا سیتوپلاسمی               |
| ۶۲ | تخلیص پروتئین‌های طبیعی مرتبط با غشاء                          |
| ۶۳ | تخلیص پروتئین‌های طبیعی نامحلول                                |
| ۶۴ | تخلیص پروتئین‌های نوترکیب                                      |
| ۶۴ | تخلیص پروتئین‌های نوترکیب محلول                                |
| ۶۵ | تخلیص پروتئین‌های نوترکیب نامحلول                              |
| ۶۶ | محدودیت دستکاری پروتئین‌ها                                     |
| ۶۷ | مراجع                                                          |

۷. فلوجارت‌های رایج تخلیص پروتئین‌های طبیعی و نو ترکیب ..... ۶۹

۷۰..... تخلیص پروتئین‌های نو ترکیب

۷۰..... پروتئین‌های نو ترکیب محلول

۷۱..... پروتئین‌های نو ترکیب نامحلول

۷۵..... تخلیص پروتئین‌های طبیعی

۷۵..... پروتئین‌های طبیعی محلول

۷۷..... پروتئین‌های مرتبط با غشاء و پروتئین‌های طبیعی نامحلول

۸۰..... مراجع

۸. تخلیص آلرژن‌های غذایی ..... ۸۱

۸۲..... عصاره‌گیری از مواد غذایی

۸۵..... بررسی فاکتورهای یک عصاره‌های آلرژیک

۸۶..... الکتروفورز عصاره آلرژیک

۸۷..... استفاده از روش‌های کروماتوگرافی برای تخلیص آلرژن‌ها

۸۷..... کروماتوگرافی تعویض یونی

۸۸..... کروماتوگرافی تعویض آنیونی

۹۰..... کروماتوگرافی تعویض کاتیونی

۹۱..... کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون

۹۲..... کروماتوگرافی فاز معکوس

۹۴..... کروماتوگرافی میانگشس هیدروفوبی

۹۴..... کروماتوگرافی تمایلی

۹۶..... دستورالعمل تخلیص کازئین شیر

۹۶..... دستورالعمل تهیه عصاره از گرده گیاهان

۹۷..... مراجع

۹. تخلیص ایمونوگلوبولین‌ها از سرم و محیط کشت سلولی ..... ۹۹

۹۹..... تخلیص آنتی‌بادی‌های تام با استفاده از ترسیب با سولفات آمونیوم

۱۰۳..... دستورالعمل عملی رسوب دادن آنتی‌بادی‌های سرم با سولفات آمونیوم

۱۰۳..... تخلیص IGG تام با روش کروماتوگرافی تمایلی

۱۰۵..... دیالیز کردن محصول پس از ترسیب با نمک یا کروماتوگرافی تمایلی

۱۰۷..... اندازه‌گیری غلظت پروتئینی پس از دیالیز

۱۰۷..... اندازه‌گیری غلظت پروتئین با روش برادفورد

۱۰۷..... اندازه‌گیری غلظت پروتئینی با روش لوری

|     |                                                                       |
|-----|-----------------------------------------------------------------------|
| ۱۰۸ | سنجش غلظت پروتئین با روش سنجش جذب نوری                                |
| ۱۰۸ | لیوفیلیزاسیون پروتئین تخلیص شده                                       |
| ۱۰۹ | دستورالعمل تغلیظ یا نمک زدائی پروتئین ها با روش اولترافیلتراسیون      |
| ۱۱۰ | مراجع                                                                 |
| ۱۱۱ | ۱۰. نکات قابل توجه در تولید و تخلیص پروتئین های نوترکیب در اشرشیا کلی |
| ۱۱۱ | تعیین میزان کشت مورد نیاز                                             |
| ۱۱۳ | توالی و محتوای اسید آمینه های پروتئین های نوترکیب                     |
| ۱۱۵ | بیان گلیکوپروتئین ها در میزان باکتریایی                               |
| ۱۱۶ | خط و صیات سیستم بیان کننده                                            |
| ۱۱۷ | نکات روتولیز محصول                                                    |
| ۱۱۷ | مهم حذف متدها در انتهای آمینی                                         |
| ۱۱۸ | تشکیل آنکروزن بادی                                                    |
| ۱۱۹ | پروتئین های و رزنی نصاب                                               |
| ۱۲۲ | استفاده از سانتریفیوژ برای جداسازی پروتئین های نوترکیب                |
| ۱۲۵ | مراجع                                                                 |
| ۱۲۷ | ۱۱. استراتژی های تخلیص پروتئین های نوترکیب از باکتری اشرشیا کلی       |
| ۱۲۷ | بررسی قابلیت انحلال پروتئین نوترکیب و محل قرارگیری آن                 |
| ۱۲۸ | تخمین یا تعیین محل تولید پروتئین نوترکیب                              |
| ۱۳۰ | استراتژی کلی تخلیص پروتئین های نوترکیب محلول                          |
| ۱۳۰ | توجه به نقطه ایزوالکتریک                                              |
| ۱۳۰ | لیز کردن باکتری ها و تهیه عصاره خام                                   |
| ۱۳۱ | شفاف سازی لیزات سلولی با سانتریفیوژ کردن یا ترسیب انتخابی             |
| ۱۳۱ | تفکیک اجزای عصاره با کروماتوگرافی تعویض یونی                          |
| ۱۳۳ | حذف پروتئین های اگرگه و نمک ها با ژل فیلتراسیون                       |
| ۱۳۳ | استفاده از روش های تمایلی                                             |
| ۱۳۵ | تهیه آنکلوژن بادی شسته شده                                            |
| ۱۳۶ | انحلال آنکلوژن بادی                                                   |
| ۱۳۷ | مرحله مناسب فرایند تاخوردگی                                           |
| ۱۳۹ | تخلیص پروتئین های دناتوره                                             |
| ۱۴۰ | ایجاد تاخوردگی پروتئین های دناتوره                                    |
| ۱۴۱ | تخلیص پروتئین های تاخورده                                             |

|     |                                          |
|-----|------------------------------------------|
| ۱۴۱ | نظارت و بررسی نحوه تأخوردگی پروتئین      |
| ۱۴۳ | نگهداری و مراقبت از پروتئین‌های نوترکیب  |
| ۱۴۳ | نگهداری پروتئین‌های تخلیص شده            |
| ۱۴۳ | افزایش حلالیت و پایداری پروتئین نوترکیب  |
| ۱۴۴ | جلوگیری از آلودگی                        |
| ۱۴۵ | حذف پیروژن‌ها                            |
| ۱۴۵ | در نظر گرفتن اهداف تخلیص                 |
| ۱۴۶ | پروتئین‌هایی با مصارف درمانی             |
| ۱۴۶ | تأییدات بیوفیزیکی و تعیین ساختار مولکولی |
| ۱۴۷ | راجع                                     |

## ۱۲. اصول تخلیص پروتئین از انکلوژن بادی

|     |                                                                                 |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------|
| ۱۵۰ | چگونگی تشکیل انکلوژن بادی                                                       |
| ۱۵۱ | روش‌های انحلال انکلوژن بادی                                                     |
| ۱۵۲ | استخراج پروتئین از انکلوژن بادی                                                 |
| ۱۵۳ | پارامترهای مهم هنگام استخراج انکلوژن بادی و رفع موانع کار                       |
| ۱۵۳ | شکستن سلول‌ها و استخراج اولیه انکلوژن بادی                                      |
| ۱۵۳ | حل کردن انکلوژن بادی در محلول گوانیدین هیدروکلراید                              |
| ۱۵۴ | حذف گوانیدین هیدروکلراید با کروماتوگرافی                                        |
| ۱۵۷ | تخلیص پروتئین‌های انصالی حاوی پلی‌هیستیدین                                      |
| ۱۵۷ | خالص‌سازی پروتئین‌های نوترکیب نامحلول با ستون <i>i-NTA</i>                      |
| ۱۵۹ | خالص‌سازی پروتئین‌های نوترکیب محلول با ستون <i>Ni-NTA</i>                       |
| ۱۶۰ | خالص‌سازی پروتئین‌های نوترکیب بیان شده در فاز رسوبی با روش دنا تورانت           |
| ۱۶۱ | تست‌شوی انکلوژن بادی                                                            |
| ۱۶۱ | انحلال انکلوژن بادی در بافر حاوی گوانیدین                                       |
| ۱۶۱ | استخراج پروتئین نوترکیب از رسوب حل شده در گوانیدین با روش دنا تورانت            |
| ۱۶۲ | آماده‌سازی ستون <i>Ni-NTA</i> برای استفاده در دفعات بعد                         |
| ۱۶۳ | خالص‌سازی پروتئین‌های بیان شده در فاز رسوبی با رزین <i>Ni-NTA</i> با روش هیپرید |
| ۱۶۴ | مراجع                                                                           |

## ۱۳. الکتروفورز و وسترن بلات

|     |                                                                |
|-----|----------------------------------------------------------------|
| ۱۶۵ | بررسی محتویات و وزن مولکولی ظاهری پروتئین‌ها با SDS-PAGE       |
| ۱۶۵ | محلول‌های مورد نیاز برای SDS-PAGE و رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی بلو |

|     |                                                                    |
|-----|--------------------------------------------------------------------|
| ۱۶۹ | رنگ آمیزی ژل با نیترات نقره .....                                  |
| ۱۷۰ | رنگ آمیزی ژل پلی آکریلامید با کوماسی کلونیدال .....                |
| ۱۷۱ | راهنمای غیب یابی در SDS-PAGE و برطرف کردن آن .....                 |
| ۱۷۳ | روش های ایمونوبلات .....                                           |
| ۱۷۳ | انتقال با جریان الکتریکی .....                                     |
| ۱۷۵ | غشاهای مورد استفاده در بلاتینگ .....                               |
| ۱۷۵ | بافر انتقال تانک الکتروفورز .....                                  |
| ۱۷۶ | مسدود کننده با اشباع کننده های مورد استفاده در ایمونوبلات .....    |
| ۱۷۷ | دستورالعمل انجام ایمونوبلات به روش نیمه خشک .....                  |
| ۱۷۷ | روش کار انتقال پروتئین ها از ژل روی غشاء .....                     |
| ۱۷۹ | مجازت سرم (آنتی بادی اولیه) با نوارهای حاوی پروتئین ایمونوژن ..... |
| ۱۷۹ | آشکارسازی .....                                                    |
| ۱۸۰ | شناساگرهای ایمونوزیک .....                                         |
| ۱۸۰ | سیستم های کوئوگ .....                                              |
| ۱۸۱ | راهنمایی غیب یابی در وسترن بلات .....                              |
| ۱۸۱ | مرحله انتقال .....                                                 |
| ۱۸۱ | مشاهده باندهای ضعیف یا عدم وجود باندهای غشاء .....                 |
| ۱۸۲ | وجود باندهای پروتئینی نامناسب، اسمیر و یا باندهای محو .....        |
| ۱۸۳ | مرحله شناسایی .....                                                |
| ۱۸۳ | وجود سیگنال های قوی در پس زمینه .....                              |
| ۱۸۳ | اتصالات غیر اختصاصی .....                                          |
| ۱۸۴ | عدم وجود واکنش یا سیگنال ضعیف .....                                |
| ۱۸۴ | غیب یابی در روش کمی لومینیسانس و رفع آن .....                      |
| ۱۸۵ | جداسازی آنتی بادی از غشاء یا پروب کردن مجدد غشاء .....             |
| ۱۸۶ | رنگ آمیزی غشاء .....                                               |
| ۱۸۷ | رنگ های آنیونی .....                                               |
| ۱۸۷ | رنگ های شلاته کننده فلزی .....                                     |
| ۱۸۸ | رنگ های فلوروسانس .....                                            |
| ۱۸۸ | سپرو روبی .....                                                    |
| ۱۸۸ | قرمز نیل .....                                                     |
| ۱۸۹ | رنگ MDPF .....                                                     |
| ۱۸۹ | رنگ آمیزی طلای کلونیدال .....                                      |

|     |                                                                           |
|-----|---------------------------------------------------------------------------|
| ۱۸۹ | رنگ آمیزی مس                                                              |
| ۱۹۰ | دستورالعمل اندازه گیری غلظت پروتئین تام                                   |
| ۱۹۰ | اندازه گیری غلظت پروتئین تام با روش لوری                                  |
| ۱۹۲ | اندازه گیری غلظت پروتئین تام با روش برادفورد                              |
| ۱۹۳ | گلیکوزیلاسیون پروتئین ها و روش های بررسی گلیکوپروتئین ها                  |
| ۱۹۴ | بررسی حضور و دخالت آنتی بادی های ضد کربوهیدرات در پاسخ بیماران به آلژن ها |
| ۱۹۴ | بررسی میزان گلیکوزیلاسیون پروتئین ها                                      |
| ۱۹۴ | بررسی گلیکوزیلاسیون پروتئین ها با روش بلاتینگ                             |
| ۱۹۵ | بررسی گلیکوزیلاسیون پروتئین ها با استفاده از تری فلورو متان سولفونیک اسید |
| ۱۹۶ | تعیین نه پیوند گلیکوزیدی                                                  |
| ۱۹۶ | شناسایی اختصاصی N گلیکان ها بر روی بلات                                   |
| ۱۹۶ | روش انجام تکامل پراکسیداز بلاتینگ                                         |
| ۱۹۷ | جداسازی اختصاصی N گلیکان ها                                               |
| ۱۹۷ | بررسی حضور آنتی بادی ها ضد کربوهیدرات و نقش آنها در پاسخ های آلرژیک       |
| ۱۹۷ | بررسی تاثیر دگلیکوزیلاسیون شش بر روی پروتئین های منتقل شده روی غشاء       |
| ۱۹۸ | بررسی اثر متابریدات روی پروتئین و میزان گلیکوزیلاسیون                     |
| ۱۹۸ | بررسی فعالیت پروتئین ها با روش زایموگراف                                  |
| ۲۰۲ | مراجع                                                                     |

## ۱۴. الکتروفورز دو بُعدی

|     |                                 |
|-----|---------------------------------|
| ۲۰۴ | آماده سازی نمونه                |
| ۲۰۵ | لیز سلولی ملایم                 |
| ۲۰۵ | لیز سلولی شدید                  |
| ۲۰۶ | رسوب گیری پروتئین               |
| ۲۰۸ | بعد اول الکتروفورز دو بعدی      |
| ۲۰۸ | نقطه ایزوالکتریک (PI)           |
| ۲۰۸ | ایزوالکتریک فوکوسینگ (IEF)      |
| ۲۰۹ | ایزوالکتریک فوکوسینگ در PH ثابت |
| ۲۰۹ | بعد دوم در الکتروفورز دو بعدی   |
| ۲۰۹ | الکتروفورز در ژل پلی آکرلامید   |
| ۲۱۰ | رنگ آمیزی ژل                    |
| ۲۱۰ | استخراج و تخلیص پروتئین         |
| ۲۱۱ | رسوب گیری با استون              |

|     |                                                  |
|-----|--------------------------------------------------|
| ۲۱۲ | رسوبگیری با استون/متانول                         |
| ۲۱۲ | رسوبگیری با TCA/استون                            |
| ۲۱۲ | رسوبگیری با کثروفرم/متانول                       |
| ۲۱۲ | بافر انحلال پروتئین                              |
| ۲۱۳ | بعد اول الکتروفورز دو بعدی: ایزوالکتریک فوکوسینگ |
| ۲۱۵ | بعد دوم ژل الکتروفورز دو بعدی: SDS-PAGE          |
| ۲۱۸ | رنگآمیزی ژل                                      |
| ۲۲۴ | مراجع                                            |

## ۱۵. لیوفیلیزاسیون..... ۲۲۵

|     |                                                                               |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------|
| ۲۲۵ | اصول لیوفیلیزاسیون                                                            |
| ۲۲۶ | بافرهای قابل استفاده در لیوفیلیزاسیون                                         |
| ۲۲۸ | پلی‌مرها و رایای‌ها: استفاده از آنها در تثبیت پروتئین‌ها در مدت لیوفیلیزاسیون |
| ۲۲۸ | سورفکتانت‌ها                                                                  |
| ۲۲۸ | آنتی‌اکسیدانت‌ها                                                              |
| ۲۲۸ | ذخیره‌سازی پروتئین‌های حاصل شده                                               |
| ۲۳۰ | مواد و ظروف مناسب برای نگهداری پروتئین‌ها                                     |
| ۲۳۰ | پیشگیری از آلودگی میکروبی                                                     |
| ۲۳۰ | مواد ضد باکتری                                                                |
| ۲۳۰ | فیلتراسیون                                                                    |
| ۲۳۱ | اجتناب از پروتئولیز                                                           |
| ۲۳۲ | افزودنی‌های نمکی                                                              |
| ۲۳۳ | استفاده از اسمولیت                                                            |
| ۲۳۳ | سوپستراها و لیگاند‌های ویژه                                                   |
| ۲۳۴ | استفاده از عوامل احیاءکننده و پیشگیری از واکنش‌های اکسیداسیون                 |
| ۲۳۴ | توجه به غلظت پروتئین                                                          |
| ۲۳۵ | ذخیره‌سازی در دمای پایین                                                      |
| ۲۳۶ | مراجع                                                                         |

## ۱۶. طیف‌سنجی جرمی..... ۲۳۷

|     |                             |
|-----|-----------------------------|
| ۲۳۷ | تاریخچه ابداع طیف‌سنجی جرمی |
| ۲۳۷ | اصول کلی دستگاه             |
| ۲۳۸ | اجزاء دستگاه طیف‌سنجی جرمی  |

|     |                                                                             |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------|
| ۲۳۹ | ..... انواع روش های یونیزاسیون                                              |
| ۲۳۹ | ..... یونیزاسیون الکترونی (Electron Impact Ionization, EI)                  |
| ۲۳۹ | ..... یونیزاسیون شیمیایی (Chemical Ionization, CI)                          |
| ۲۴۰ | ..... یونیزاسیون میدانی (Field Ionization)                                  |
| ۲۴۰ | ..... یونیزاسیون گرمایی (Thermal Ionization)                                |
| ۲۴۰ | ..... یونیزاسیون به روش بمباران اتمی (Fast atom bombardment)                |
| ۲۴۱ | ..... یونیزاسیون به روش الکترواسپری (Electrospray ionization)               |
| ۲۴۲ | ..... یونیزاسیون به روش (MALDI) Matrix-assisted laser desorption ionization |
| ۲۴۳ | ..... آنالیز، های جرمی                                                      |
| ۲۴۳ | ..... آنالیزر مغناطیسی (Magnetic sector analyzer)                           |
| ۲۴۳ | ..... آنالیزور تمرکز دوگانه (Double focusing analyzer)                      |
| ۲۴۳ | ..... آنالیزور جرمی چهار قطبی (Quadrupole, Q)                               |
| ۲۴۴ | ..... آنالیزور جرمی یونی (Ion trap)                                         |
| ۲۴۵ | ..... آنالیزور جرمی زمان پرواز (Time of Flight, TOF)                        |
| ۲۴۶ | ..... آنالیزور جرمی فوریر (Fourier transform)                               |
| ۲۴۶ | ..... آنالیزور جرمی اوربیتال (Orbitrap)                                     |
| ۲۴۷ | ..... آشکارساز (DETECTOR)                                                   |
| ۲۴۸ | ..... طیف سنجی متوالی و کاربرد بالینی آن                                    |
| ۲۴۸ | ..... توانایی یابی پپتیدها بوسیله طیف سنج جرمی متوالی (ESI/MS)              |
| ۲۴۹ | ..... شناسایی پروتئین ها بوسیله طیف سنج جرمی                                |
| ۲۵۰ | ..... شناسایی پروتئین ها به کمک روش های مبتنی بر استراتژی Bottom-up         |
| ۲۵۱ | ..... شناسایی پروتئین ها به وسیله روش های مبتنی بر استراتژی Top-down        |
| ۲۵۲ | ..... شناسایی تغییرات پس از ترجمه (PTM) بوسیله طیف سنج جرمی                 |
| ۲۵۳ | ..... مراجع                                                                 |

به نام آنکه هستی نام از او یافت

فلک جنبش، زمین آرام از او یافت

شناسائی تغییرات و اختلالات پروتئین‌ها علمی کاربردی بوده و یکی از فرایندهای روزمره بسیاری از تحقیقات پایه پزشکی بخصوص رشته پویای ایمونولوژی محسوب می‌شود. از طرفی، دستیابی به پروتئین‌های خالص، لازمه بسیاری از تحقیقات علوم پایه و تولید و طراحی کیت‌های سنجش ایمنی محسوب می‌شود. کتاب حاضر ویرایش جدیدی از چاپ قبلی است که در آن علاوه بر بحث روی اصول اولیه تخلیص پروتئین‌های طبیعی و نوترکیب، تجربیات آموزشی، پژوهشی نگارندگان بکار گرفته شده است تا متنی روان و ساده ولی در عین حال کاربردی و آموزشی تهیه گردد. لازم به ذکر است که قسمت‌هایی از متن کتاب مربوط به مباحث درس ایمونوشیمی بوده و برای بعضی از خوانندگانی آموزشی علوم پایه از جمله ایمونولوژی و بیوشیمی به صورت تئوری و عملی تدریس می‌شود.

در آغاز سخن بر خود لازم می‌دانم که از همکاران: دکتروان که در آماده سازی متن کتاب نقش عمده‌ای داشته‌اند تشکر ویژه داشته باشم. جناب آقای دکتر علی اکبر دل‌بندی با افزودن فصلی تحت عنوان دترجنت‌ها مطالب قبلی مربوط به تهیه عصاره را تکمیل کردند. آقای دکتر رضا احمدی مطالبی را در رابطه با روش‌های کروماتوگرافی اضافه نمودند که فصول مربوطه را تکمیل نمود. فصل جدیدی در رابطه با بررسی گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها بر اساس تجربیات نویسندگان تهیه شد. سرکار خانم ندا احمدی با افزودن فصلی تحت عنوان الکتروفورز دو بعدی مطالب مربوط به روش‌های الکتروفورز را تکمیل نمود. همکاران دیگر شامل سرکار خانم فرشته سادات رائی ورعی، سرکار خانم مریم وکیلی مقدم، خانم فاطمه سادات محمدی در افزودن فصول جدیدی مشتمل بر بررسی پروتئین‌های خالص شده با روش‌های اسپکتروسکوپی جرمی و نگارشی پروتئین‌ها و همین‌طور همکاری در ویرایش بعضی از فصول چاپ قبلی و بهینه سازی متن کتاب موثر بودند.

با این حال ویرایش اصلی متن کتاب و همسان‌سازی مطالب و تصحیح متون نهایی توسط ستاد محترم گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، سرکار خانم دکتر کبری مختاریان انجام شد که در واقع تجربیات پژوهشی خود را در این کتاب به کار بردند و بسیاری از متون تهیه شده را با هم ادغام نموده و قسمت‌های تخصصی‌تر را با زبانی ساده بیان نمودند تا مطالب کتاب برای عموم دانشجویان و محققین مفید واقع شود.

بر خود فرض می‌دانم که از جناب آقای دکتر مهدی شکرآبی مدیر محترم گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران و رئیس مرکز تحقیقات ایمونولوژی دانشگاه که با تشویق‌ها و پیگیری‌های خود موجب تسریع آماده‌سازی این کتاب شدند تشکر و قدردانی نمایم. همچنین از همکاری‌های پرسنل و مدیریت انتشارات حیدری که صفحه آرائی و چاپ و نشر ویرایش اخیر تلاش فراوانی داشتند تشکر می‌نمایم.

در این کتاب ابتدا مبانی تخلیص پروتئین‌های طبیعی و نوترکیب معرفی شده و پروتئین‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. سپس استراتژی‌های کلی تخلیص پروتئین‌های نوترکیب داخل سلولی و خارج سلولی و همچنین انواع پروتئین‌های محلول و نامحلول بحث خواهد شد.

فصول متعددی به روش‌های تخلیص پروتئین‌های طبیعی مانند ایمونوگلوبولین‌های سرم و آلرژن‌های غذایی می‌پردازد و به صورت جسته و گریخته در سایر فصول نیز این مطالب به عناوین مختلف بازگویی می‌شود. همچنین با توجه به اهمیت و کاربرد روزمره تولید پروتئین‌های نوترکیب، روش‌های تخلیص پروتئین‌های فوق به صورت نمودارهای ساده بحث شده و روش ایجاد تاخوردگی مجدد پروتئین‌ها بحث می‌شود. اصول بررسی گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها معرفی شده و روش‌های الکتروفورز تک بعدی و دو بعدی و روش‌های مختلف بلاتینگ پروتئین‌ها معرفی می‌شوند. به علاوه روش‌های تعیین هویت پروتئین‌ها و خصوصیات بیوفیزیکی آن بحث خواهد شد. همچنین در فصول آخر روش‌های سنجش پروتئین‌ها و نگهداری آنها به صورت طولانی مدت بخصوص با روش‌های لیوفیلیزاسیون بحث شده است.

مجموعه حاضر هدف تهیه یک کتاب آموزشی تخصصی برای دانشجویان تحصیلات تکمیلی نگارش شده است که امیدواریم مورد پسند ایشان واقع شود. در این نگارش، سادگی و روانی جملات و همین‌طور کاربردی بودن مطالب مورد بحث مدنظر قرار گرفته است. گمان بوده و سعی شده است روش‌های رایج فعلی با توجه به امکانات موجود کشور عزیزمان هدف اصلی کتاب باشد. همچنین در ویرایش کتاب سعی شده است که کلمات نامأنوس با اصطلاحات ساده‌تر جایگزین شوند. لذا انتظار می‌رود که علاوه بر پژوهشگران، دانشجویان کارشناسی رشته‌های مختلف علوم زیستی نیز از آن بهره‌مند گردند. مسلماً نوشته حاضر عاری از خطا نیست و امیدواریم که اساتید و دانشجویان سرگشته بر نویسندگان منت نهاده و اشکالات مشاهده شده را ترجیحاً از طریق رایانامه به آدرس [ezafalak@gmail.com](mailto:ezafalak@gmail.com) یا [Falak.r@iums.ac.ir](mailto:Falak.r@iums.ac.ir) اعلام نمایند تا در چاپ‌های آتی مورد اصلاح قرار گیرد.

دکتر رضا فلک

دانشیار ایمونولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات ایمونولوژی

دانشگاه علوم پزشکی ایران

نویسنده مسئول