

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره ۴۶۶

# متابولومیکس

مبانی و کاربردها در پزشکی، داروسازی، زیست‌شناسی و شیمی

تألیف:

دکتر مهرداد ایرانشاهی

استاد گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی، دانش‌آگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر مائده حسن پور منصور

دکترای شیمی آلی دانشگاه فردوسی مشهد

پسا دکترای متابولومیکس، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

سرشناسه: ایران‌شاهی، مهرداد، ۱۳۵۳ -

عنوان و نام پدیدآور: متابولومیکس: مبانی و کاربردها در پزشکی، داروسازی، زیست‌شناسی و شیمی/تالیف: مهرداد

ایران‌شاهی، مانده حسن پور منصور.

مشخصات نشر: مشهد: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد، ۱۳۹۸.

مشخصات ظاهری: ۵۰۲ص: مصور (بخشی رنگی)، نمودار (بخشی رنگی).

فروست: انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد؛ ۴۶۶.

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۳۶۹-۱۴۷-۶

وضعیت فهرست نویسی: فیپا

یادداشت: کتابنامه.

عنوان دیگر: مبانی و کاربردها در پزشکی، داروسازی، زیست‌شناسی و شیمی.

موضوع: متابولومیکس

Metabolomics

شناسه افزوده: حسن پور منصور، مانده، ۱۳۶۴ -

شناسه افزوده: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد

شناسه افزوده: Mashhad University of Medical sciences & Health Services

رده بندی کنگره: QP۱۷۱

رده بندی دیویی: ۵۷۲/۴

شماره کتابشناسی ملی: ۶۰۳۶۴۳۸



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد شماره اثر ۴۶۶

## متابولومیکس

مبانی و کاربردها در پزشکی، داروسازی، زیست‌شناسی و شیمی

تالیف

دکتر مهرداد ایران‌شاهی

دکتر مانده حسن پور منصور

وزیری، ۵۰۲ صفحه، ۱۰۰ نسخه، چاپ اول، تابستان ۱۳۹۹

حق چاپ محفوظ است.

بهاء: ۱۰۰,۰۰۰ تومان

## بسمه تعالی

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد - به عنوان یک نهاد علمی - فرهنگی، چاپ و نشر، کتابهای مورد استفاده استادان و دانشجویان رشته‌های علوم پزشکی را از وظایف اساسی خود می‌داند و بر آن است تا با انتشار متون مربوط به علوم پزشکی، هم بر اعتبار و اعتلای آنها بیفزاید و هم موجبات دل‌گرمی و شوق و نشاط امر تحقیق را در پی‌جوییهای علمی فراهم آورد.

به یقین چاپ و نشر آثار معتبر علمی، امکان دستیابی اهل تحقیق را به منابع مختلف و گوناگون علمی مورد نیاز به بهترین صورتی میسر و ممکن خواهد ساخت و راه را برای تحقیقات بعدی هموار خواهد کرد.

باید گفته شد که گستردگی فعالیتهای مربوط به نشر، در قلمرو ناشران خصوصی، نه تنها از مسؤلیت و کثرت معیار دانشگاهی، به کوشش در این زمینه‌ها با تکیه بر جنبه‌های علمی و فرهنگی موضوع نمی‌گردد، بلکه به دلایل گوناگون، از جمله لزوم بررسیهای دقیق کارشناسی، ویرایشهای علمی و فنی و نیز توجه حداکثر به توان مالی مخاطبان آثار، به‌ویژه دانشجویان، ایجاب می‌کند که دانشگاه علمی بررسی دامنه خدمات خود را با تکیه بر جنبه‌های کیفی، و گاه صرف‌نظر از بازده اقتصادی گسترش دهند.

مسئولان انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، با اشتیاق و اخلاص تمام می‌خواهند تا جدیدترین آثار مربوط به دانشهای پزشکی را به بهترین شیوه فراهم آورند و بکوشند تا آثار منتشر شده با کیفیت مطلوب عرضه گردد. در عین حال انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مترصد دریافت نظرها و انتقادهای به‌جا و سازنده اهل نظر خواهند بود، از این طریق بتواند بر کمال آثار منتشره خویش بیفزاید.

معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد با استعانت از انجمن خدایوندی امیدوار است که نشر این اثر همانند دیگر آثار انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد با نفع و نفع‌رسانانه این معاونت، و با تکیه بر ابتکار و کوشش اعضا و کارشناسان دانش‌آموخته خریس و نیز ایجاد ارتباط محکم و پایدار با جامعه پزشکی و دانشجویان پژوهشگر، در جهت ارتقای کیفی و تنوع موضوعات مورد نیاز دانش‌پژوهان رشته‌های علوم پزشکی گامهای مؤثر بردارد تا مورد استفاده دانشجویان و مقبول طبع صاحب‌نظران و دانشگاهیان نکته‌بین قرار بگیرد.

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد

## فهرست مطالب

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| پیشگفتار.....                                                       | 1  |
| بخش اول: مقدمه‌ها بر متابولومیکس و زیست‌شناسی سامانه‌ها.....        | 2  |
| هدف.....                                                            | 3  |
| مقدمه.....                                                          | 4  |
| تاریخچه مختصری از مطالعه میکروبیولوژی سامانه‌ها.....                | 5  |
| تعاریف و مراحل کار متابولومیکس.....                                 | 6  |
| مسئله بیولوژیکی و طراحی تجربی.....                                  | 7  |
| آماده‌سازی نمونه.....                                               | 8  |
| جمع‌آوری داده‌ها.....                                               | 9  |
| پردازش داده‌ها.....                                                 | 10 |
| آنالیز آماری.....                                                   | 11 |
| شناسایی متابولیت‌ها.....                                            | 12 |
| ارتباط مسیرهای متابولیک.....                                        | 13 |
| اعتبارسنجی بیولوژیکی.....                                           | 14 |
| اهمیت متابولومیکس در مطالعات بالینی.....                            | 15 |
| References.....                                                     | 16 |
| بخش دوم: جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها در مطالعات متابولومیکس..... | 17 |
| هدف.....                                                            | 18 |
| مقدمه.....                                                          | 19 |
| انواع نمونه‌های مورد بررسی در مطالعات بالینی.....                   | 20 |

|    |       |                                           |
|----|-------|-------------------------------------------|
| ۳۸ | ..... | ملاحظات نمونه برداری                      |
| ۳۹ | ..... | مایع های بیولوژیکی                        |
| ۳۹ | ..... | ادرار                                     |
| ۴۴ | ..... | سرم و پلاسما                              |
| ۴۷ | ..... | مایع های بیولوژیکی دیگر                   |
| ۴۷ | ..... | بزاق                                      |
| ۴۸ | ..... | مایع مغزی نخاعی                           |
| ۴۹ | ..... | عرق و شیر مادر                            |
| ۴۹ | ..... | سلول های اولیه و نامیرا                   |
| ۵۰ | ..... | ملاحظات                                   |
| ۵۱ | ..... | نمونه برداری و استخراج                    |
| ۵۴ | ..... | نرمال سازی                                |
| ۵۴ | ..... | بافت ها                                   |
| ۵۴ | ..... | جمع آوری نمونه، نگهداری و ایداری نمونه ها |
| ۵۵ | ..... | همگن سازی                                 |
| ۵۹ | ..... | آماده سازی نمونه                          |
| ۶۱ | ..... | نرمال سازی قبل از آنالیز                  |
| ۶۱ | ..... | تصویربرداری سلول و بافت                   |
| ۶۲ | ..... | آماده سازی نمونه های گیاهی                |
| ۶۴ | ..... | جمع آوری نمونه                            |
| ۶۶ | ..... | خشک کردن                                  |
| ۶۸ | ..... | استخراج                                   |
| ۶۸ | ..... | آماده سازی نمونه برای آنالیز              |
| ۷۰ | ..... | تکنیک های پیش از آنالیز                   |
| ۷۱ | ..... | آماده سازی نمونه های میکروارگانیزم        |
| ۷۱ | ..... | میکروارگانیزم ها و ویژگی آنها             |
| ۷۲ | ..... | باکتری ها                                 |
| ۸۰ | ..... | آنالیز متابولوم بیرونی و درونی قارچ ها    |

|   |                                                                                              |
|---|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| ۰ | متوقف کردن و آماده سازی نمونه برای آنالیز متابولوم بیرونی و درونی متابولیت‌های غیر فرار..... |
| ۳ | مخمر ها.....                                                                                 |
| ۴ | نمونه برداری با استفاده از ابزار هوشمند.....                                                 |
| ۴ | References.....                                                                              |
| ۷ | بخش سوم: تکنیک‌های آنالیز در مطالعات متابولومیکس.....                                        |
|   | فصل اول: مطالعات متابولومیکس مبتنی بر تکنیک کروماتوگرافی گازی -                              |
| ۸ | طیف سنح جرمی (GC-MS).....                                                                    |
| ۸ | هدف.....                                                                                     |
| ۸ | مقدمه.....                                                                                   |
| ۹ | کروماتوگرافی گازی - طیف سنح جرمی (GC-MS).....                                                |
| ۹ | اصول GC-MS - فناوری‌های کلیدی.....                                                           |
| ۹ | فن آوری‌های کلیدی GC-MS در GC-MS.....                                                        |
| ۷ | فن آوری‌های کلیدی MS در GC-MS.....                                                           |
| ۲ | آماده سازی نمونه و تکنیک‌های آنالیز GC-MS.....                                               |
| ۲ | پلاسما.....                                                                                  |
| ۴ | حذف پروتئین از پلاسما.....                                                                   |
| ۶ | ادراک.....                                                                                   |
| ۷ | یافت.....                                                                                    |
| ۹ | آنالیز GC-MS.....                                                                            |
| ۹ | گیاهان.....                                                                                  |
| ۲ | پردازش اولیه داده ها.....                                                                    |
| ۴ | پردازش اولیه داده‌های LC-MS و GC-MS.....                                                     |
| ۹ | مشکلات و ملاحظات متداول.....                                                                 |
| ۹ | مشکلات متداول در مطالعات متابولومیکس مبتنی بر آنالیز GC-MS.....                              |
| ۳ | نکاتی در رابطه با مطالعات متابولومیکس مبتنی بر GC-MS.....                                    |
| ۳ | کروماتوگرافی گازی دو بعدی GC-MS × GC.....                                                    |
| ۶ | References.....                                                                              |

## فصل دوم: مطالعات متابولومیکس مبتنی بر تکنیک کروماتوگرافی مایع -

|     |                                                       |
|-----|-------------------------------------------------------|
| ۱۴۷ | طیف سنج جرمی (LC-MS).....                             |
| ۱۴۷ | اصول کروماتوگرافی مایع حطیف سنج جرمی (LC-MS).....     |
| ۱۴۷ | مقدمه.....                                            |
| ۱۴۷ | کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC).....          |
| ۱۵۳ | رابط بین LC و MS.....                                 |
| ۱۵۵ | آشکار سازهای MS.....                                  |
| ۱۵۸ | روش‌های جدید در توسعه تکنیک LC-MS.....                |
| ۱۵۹ | کروماتوگرافی مایع با کارایی فوق العاده (UPLC).....    |
| ۱۶۰ | کروماتوگرافی مایع تعامل هیدرولیکی (HILIC).....        |
| ۱۶۱ | کروماتوگرافی مایع دو بعدی ۲ (D-LC).....               |
| ۱۶۲ | تکنیک ترکیبی LC-NMR.....                              |
| ۱۶۲ | مشکلات و ملاحظات مداوم.....                           |
| ۱۶۲ | سیستم LC.....                                         |
| ۱۶۴ | اثر ماتریکس طیف سنج MS.....                           |
| ۱۶۵ | ملاحظات لازم در آماده سازی نمونه.....                 |
| ۱۶۷ | کاربرد LC-MS در مطالعات بالینی.....                   |
| ۱۶۸ | شناسایی متابولیت‌های بیرونی.....                      |
| ۱۷۰ | شناسایی متابولیت‌های مرسوم دارو.....                  |
| ۱۷۲ | متابولیت‌های درونی.....                               |
| ۱۷۸ | تایید متابولیت.....                                   |
| ۱۷۸ | تطابق متابولیت‌های ناشناخته با استانداردهای مرجع..... |
| ۱۷۹ | References.....                                       |

## فصل سوم: مطالعات متابولومیکس مبتنی بر تکنیک رزونانس مغناطیسی هسته (NMR).....

|     |                                          |
|-----|------------------------------------------|
| ۱۸۱ | هدف.....                                 |
| ۱۸۲ | مقدمه.....                               |
| ۱۸۳ | بررسی کلی تاریخچه و توسعه تکنیک NMR..... |
| ۱۸۳ | اصول تکنیک NMR.....                      |

|     |                                                                |
|-----|----------------------------------------------------------------|
| ۱۸۵ | .....دستگاه طیف سنج NMR                                        |
| ۱۸۷ | .....NMR نمونه‌های زیستی و کاربرد آن در مطالعات متابولومیکس    |
| ۱۸۸ | .....مایع‌های بیولوژیکی                                        |
| ۱۸۸ | .....پلازما و سرم (نمونه‌های مشتق شده از خون)                  |
| ۱۸۹ | .....ادرار                                                     |
| ۱۸۹ | .....بافت‌ها و سلول‌ها                                         |
| ۱۹۰ | .....بافت و سلول‌ها: روش استخراج                               |
| ۱۹۱ | .....بافت: نمونه‌های HR-MAS                                    |
| ۱۹۲ | .....NMR نمونه‌ی گیاهی و کاربرد آن در مطالعات متابولومیکس      |
| ۱۹۴ | .....نمونه برداری                                              |
| ۱۹۸ | .....آماده سازی عصاره - ملاطحات کلی                            |
| ۲۰۲ | .....آماده سازی عصاره - ملاطحات خاص ماتریکس                    |
| ۲۰۴ | .....تکنیک‌های مختلف NMR                                       |
| ۲۰۶ | .....طیف سنجی NMR یک بعدی                                      |
| ۲۰۷ | .....طیف سنجی NMR دو بعدی                                      |
| ۲۰۷ | .....طیف سنجی NMR دو بعدی J-Resolved                           |
| ۲۱۰ | .....طیف سنجی NMR دو بعدی $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -TOCSY   |
| ۲۱۲ | .....طیف سنجی NMR دو بعدی $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY    |
| ۲۱۲ | .....طیف سنجی NMR دو بعدی $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC |
| ۲۱۴ | .....طیف سنجی NMR دو بعدی $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HMBC |
| ۲۱۴ | .....پردازش اولیه داده‌های NMR                                 |
| ۲۱۶ | .....پردازش اولیه طیف‌ها                                       |
| ۲۱۶ | .....متابولومیکس غیر هدفمند (اثر انگشت متابولیکی)              |
| ۲۱۸ | .....تصحیح خط پایه (Baseline Correction)                       |
| ۲۲۰ | .....حذف یا کاهش نویز (Noise Reduction and Smoothing)          |
| ۲۲۰ | .....انطباق پیک (Alignment)                                    |
| ۲۲۳ | .....ناحیه بندی طیف (Binning and Bucketing)                    |
| ۲۲۵ | .....هم تراز سازی داده‌ها (Data Normalization)                 |



|     |                                                           |
|-----|-----------------------------------------------------------|
| ۲۲۸ | ..... متابولومیکس هدفمند                                  |
| ۲۲۹ | ..... پایگاه‌های داده NMR برای مطالعات متابولومیکس        |
| ۲۳۱ | ..... پایگاه داده HMDB                                    |
| ۲۳۱ | ..... پایگاه داده کنسرسیون متابولومیکس مدیسون (MMCD)      |
| ۲۳۳ | ..... پایگاه داده BMRB                                    |
| ۲۳۳ | ..... پایگاه داده BML-NMR                                 |
| ۲۳۴ | ..... پایگاه داده COLMAR                                  |
| ۲۳۴ | ..... نرم افزارهای آنالیز متابولومیکس مبتنی بر تکنیک NMR  |
| ۲۳۶ | ..... تکنیک‌های جدید در مطالعات متابولومیکس مبتنی بر NMR  |
| ۲۳۶ | ..... اثرات زمان است                                      |
| ۲۴۱ | ..... توالی جدید پالس                                     |
| ۲۴۳ | ..... توسعه و بهبود پروب                                  |
| ۲۴۵ | ..... تکنیک‌های $C^{13}$ و هسته‌های دیگر                  |
| ۲۴۶ | ..... قطبش بیش از حد هسته ای (Hyper-Nuclear Polarization) |
| ۲۴۹ | ..... تکنیک‌های ادغام روش‌های طیف سری با تکنیک NMR        |
| ۲۵۲ | ..... کاربردهای متابولومیکس مبتنی بر تکنیک NMR            |
| ۲۵۲ | ..... سرطان                                               |
| ۲۵۷ | ..... دیابت                                               |
| ۲۵۸ | ..... بیماری‌های دیگر                                     |
| ۲۵۹ | ..... عفونت                                               |
| ۲۶۰ | ..... چاقی                                                |
| ۲۶۱ | ..... سمیت‌های زیست محیطی                                 |
| ۲۶۳ | ..... تغذیه                                               |
| ۲۶۴ | ..... گیاهان                                              |
| ۲۷۱ | ..... References                                          |

## فصل چهارم: مطالعات متابولومیکس مبتنی بر تکنیک الکتروفورز موئین -

|     |                            |
|-----|----------------------------|
| ۲۷۵ | ..... طیف سنج جرمی (CE-MS) |
|-----|----------------------------|

|     |                                                                 |
|-----|-----------------------------------------------------------------|
| ۷۵  | هدف                                                             |
| ۷۵  | مقدمه                                                           |
| ۷۶  | اصول الکتروفورز موئین - طیف سنج جرمی (CE-MS)                    |
| ۸۰  | روش های مختلف جداسازی CE-MS در مطالعات متابولومیکس              |
| ۸۱  | حالت های مختلف جداسازی و الکترولیت زمینه در CE-MS               |
| ۸۴  | رابط بین دو دستگاه CE و MS                                      |
| ۸۸  | آماده سازی نمونه                                                |
| ۹۰  | پردازش داده ها                                                  |
| ۹۱  | کاربردهای CE-MS در مطالعات متابولومیکس                          |
| ۹۲  | References                                                      |
| ۹۳  | بخش چهارم: مفاهیم با آمار: داده های حاصل از مطالعات متابولومیکس |
| ۹۴  | هدف                                                             |
| ۹۴  | مقدمه                                                           |
| ۹۹  | آنالیز مولفه اصلی (PCA)                                         |
| ۱۰۵ | اطلاعات تشخیصی دیگر حاصل از مدل                                 |
| ۱۰۹ | آنالیز PLS                                                      |
| ۱۰۶ | آنالیز PLS-DA                                                   |
| ۱۰۱ | آنالیز OPLS                                                     |
| ۱۰۴ | مدل OPLS-DA                                                     |
| ۱۰۸ | نقشه های S (S-plots)                                            |
| ۱۰۸ | آنالیز خوشه ای یا دسته ای (HCA)                                 |
| ۱۰۶ | References                                                      |
| ۱۰۹ | بخش پنجم: کاربردهای متابولومیکس                                 |
| ۱۰  | هدف                                                             |
| ۱۰  | مقدمه                                                           |
| ۱۰۲ | کاربردهای مطالعات متابولومیکس در بیماری سرطان                   |
| ۱۰۳ | تغییرات متداول متابولیسم در سرطان                               |