



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره ۳۳۹

تولید و ارزیابی فراورده‌های پتیدی و پروتئینی

تألیف:

دکتر مریم هاشمی

استادیار مرکز تحقیقات نانو فناوری - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر محمد رمضانی

استاد دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر محمود رضا جعفری

استاد دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر احمد مختارزاده

PhD بیوتکنولوژی دارویی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر فاطمه سلطانی

استادیار دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر حمیده پرهیز

استادیار دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی مشهد

عنوان و نام پدیدآور:	تولید و ارزیابی فرآورده‌های پیتیدی و پرتینی / تألیف مریم هاشمی [و دیگران].
مشخصات نشر:	مشهد: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد، ۱۳۹۴.
مشخصات ظاهری:	۱۶۶ ص.
فروست:	(انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد؛ شماره ۳۴۹).
شابک:	(ISBN: 978-600-369-020-2)
وضعیت فهرست‌نویسی:	فیا.
یادداشت:	تألیف مریم هاشمی، محمود رضا جعفری، محمد رمضانی، احد مختارزاده، فاطمه سلطانی، حمیده پرهیز.
یادداشت:	کتابنامه: ص. ۱۶۷.
موضوع:	پروتین.
موضوع:	فرآورده‌های حیوانی.
شناسه افزوده:	هاشمی، مریم، ۱۳۵۲ -
شناسه افزوده:	دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد.
رده‌بندی کنگره:	۹۱۳۹۴ ت / ۵۵۱ QP
رده‌بندی دیویی:	۵۷۲/۶
شماره کتابشناسی ملی:	۳۹۰۴۹۲۷



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره ۳۴۹

تولید و ارزیابی فرآورده‌های پیتیدی و پرتینی

تألیف

دکتر مریم هاشمی - دکتر محمد رمضانی - دکتر محمود رضا جعفری

دکتر احد مختارزاده - دکتر فاطمه سلطانی - دکتر حمیده پرهیز

وزیری، ۱۶۶ صفحه، ۳۲۰ نسخه، چاپ اول، پاییز ۱۳۹۴

امور فنی و چاپ: مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

بها: ۷۰۰۰۰ ریال

فهرست مطالب

۹	پیش‌گفتار
۱۱	فصل ۱ - ساختار و عملکرد پروتئین
۱۲	اسیدهای آمینه: واحدهای سازنده پروتئین
۱۵	پیوند پپتیدی
۱۶	سطوح ساختاری در پروتئین‌ها
۱۶	ساختار اول پروتئین
۱۸	ساختار دوم پروتئین
۱۹	ساختار سوم پروتئین
۲۰	دامنه و موتیف پروتئینی
۲۱	دامنه آلفا
۲۳	دامنه بتا
۲۶	دامنه آلفا/بتا
۲۷	دامنه آلفا + بتا
۲۷	دامنه اتصال متقاطع
۲۸	ساختار چهارم پروتئین
۲۹	تا خوردگی پروتئین
۳۱	عملکرد پروتئین
۳۲	پروتئین‌های ساختاری
۳۵	پروتئین‌ها در نقش کاتالیزور
۳۷	فصل ۲ - منابع تهیه پروتئین
۳۷	میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان منبع تولید پروتئین
۳۹	تولید پروتئین نوترکیب در میکروارگانیسم‌ها
۴۱	تولید پروتئین نوترکیب در اشریشیا کلی
۴۳	سایر میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در تولید پروتئین‌های نوترکیب
۴۴	تولید پروتئین نوترکیب در مخمرها

۴۴	تولید پروتئین نوترکیب در قارچ ها
۴۵	تولید پروتئین نوترکیب در گیاهان
۴۷	تولید پروتئین نوترکیب در حیوانات
۵۰	استفاده از سلول‌های حیوانی برای تهیه پروتئین‌های نوترکیب
۵۲	تولید پروتئین‌های نوترکیب در سیستم‌های کشت حشرات
۵۲	تهیه پروتئین نوترکیب توسط فن آوری نمایش فاز
۵۴	سنتز شیمیایی پروتئین ها

فصل ۳ - بازیافت اولیه پروتئین‌ها

۵۷	بازیافت اولیه پروتئین‌ها
۵۸	روش‌های متلاشی کردن سلول
۵۹	حذف اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها
۵۹	تغلیظ به روش ترسب
۶۱	تغلیظ با سافت‌کس G-25
۶۱	تغلیظ با اولترافیلتراسیون
۶۳	تغلیظ توسط لیوفیلیزاسیون
۶۵	تغلیظ به وسیله تعویض یون
۶۵	کروماتوگرافی ستونی
۶۶	ژل فیلتراسیون
۷۲	کروماتوگرافی تعویض یونی
۷۶	کروماتوگرافی آب گریز (هیدروفوب)
۷۷	کروماتوگرافی تمایلی
۷۹	کروماتوگرافی تمایلی ایمونولوژیکی
۷۹	کروماتوگرافی پروتئین A و G
۷۹	کروماتوگرافی تمایلی لکتین
۸۰	کروماتوگرافی تمایلی رنگ
۸۰	کروماتوگرافی تمایلی چلات فلزی
۸۲	کروماتوگرافی بر روی بستر هیدروکسی آپاتیت
۸۲	کروماتوفوکوسینگ

فصل ۴ - روش‌های آنالیز پروتئین‌ها

۸۵	روش‌های بررسی پروتئین‌ها
۸۵	اولتراسانتریفیوژ
۸۷	روش Salting out
۸۸	طیف سنجی ماوراء بنفش (UV) برای اندازه گیری غلظت پروتئین ها
۸۸	اندازه گیری مستقیم در طول موج ۲۸۰ نانومتر
۸۹	واکنش بیورت

۸۹	روش لوری
۹۰	روش بیسینکونینیک اسید (BCA)
۹۱	روش برادفورد
۹۲	روش اتصال رنگ
۹۲	تعیین غلظت بر اساس روش کدورت سنجی
۹۳	روش‌های الکتروفورزی برای آنالیز پروتئین‌ها
۹۳	الکتروفورز ژل آکریلامید تک بعدی
۹۴	روش PAGE غیر دناتوره کننده برای جداسازی پروتئین‌های طبیعی
۹۴	الکتروفورز دو بعدی
۹۶	رنگ آمیزی پروتئین‌ها پس از الکتروفورز
۹۶	رنگ آمیزی پروتئین‌ها با کوماسی بلو
۹۶	رنگ آمیزی پروتئین‌ها با SYPRO Ruby Fluorescent
۹۶	رنگ آمیزی پروتئین‌ها با نقره
۹۶	واکسن بلات
۹۸	الایزا
۹۹	روش الایزای مستقیم
۹۹	روش الایزای غیر مستقیم
۹۹	روش الایزای ساندویچی
۱۰۰	روش HPLC
۱۰۱	روش رزونانس مغناطیس هسته (NMR)
۱۰۴	طیف سنجی جرمی
۱۰۷	فصل ۵ - ناپایداری فرآورده‌های پروتئینی
۱۰۷	ناپایداری فیزیکی
۱۰۷	تجمع
۱۰۹	تشکیل ذره/رسوب
۱۱۰	دناتوراسیون
۱۱۱	دناتوراسیون حرارتی
۱۱۳	دناتوراسیون برودتی
۱۱۳	دناتوراسیون در اثر pH
۱۱۳	دناتوراسیون در اثر تغییر در ثابت دی الکتریک حلال
۱۱۴	دناتوراسیون در اثر املاح
۱۱۵	دناتوراسیون سطحی
۱۱۵	جذب سطحی
۱۱۶	تجمع و توده شدن پروتئین
۱۱۶	رسوب پروتئین
۱۱۶	دناتوراسیون در اثر فشار
۱۱۶	دناتوراسیون در اثر لیوفیلیزه کردن محلول پروتئینی

۱۱۷	ناپایداری شیمیایی
۱۱۸	اکسیداسیون
۱۱۸	اکسیداسیون متیونین
۱۱۹	اکسیداسیون سیستئین
۱۱۹	اکسیداسیون کاتالیز شده با فلز
۱۱۹	اکسیداسیون تابشی
۱۲۰	محافظت در برابر اکسیداسیون
۱۲۱	دامیداسیون
۱۲۳	کنترل سرعت دامیداسیون
۱۲۳	هیدرولیز
۱۲۴	راسمیزاسیون و حذف بتا
۱۲۵	قنددار شدن پروتئین‌ها
۱۲۶	بهبود پایداری پروتئین
۱۲۶	پایدارسازی کونفورماسیونی
۱۲۷	بافر ها
۱۲۷	سورفکتانت
۱۲۷	سایر عوامل
۱۲۸	پایدارسازی کلونیدی
۱۲۸	پایدارسازی از طریق خشک کردن
۱۳۰	پایدارسازی از طریق جهش زایی هدفمند
۱۳۰	اصلاحات شیمیایی
۱۳۱	ارتباط بین ناپایداری شیمیایی و فیزیکی
۱۳۳	فصل ۶ - فرمولاسیون فراورده‌های پروتئینی
۱۳۳	سیستم بافری فرمولاسیون
۱۳۵	فرمولاسیون پروتئین‌ها با استفاده از عوامل پایدار کننده
۱۳۵	اسیدهای آمینه
۱۳۶	اسمولیت ها
۱۳۷	قندها و کربوهیدرات‌ها
۱۳۸	پروتئین‌ها و پلی مرها
۱۳۹	نمکها
۱۴۰	سورفکتانت‌ها
۱۴۰	عوامل جلالت کننده و آنتی اکسیدانت
۱۴۱	محافظت میکروبی از فرمولاسیون
۱۴۱	افزایش حلالیت پروتئین
۱۴۲	روشهای انتخاب فرمولاسیون مناسب و تعیین پایداری
۱۴۳	انواع فرمولاسیونهای فراورده پتیدی و پروتئینی

فصل ۷ - پروتئین‌های درمانی تزریقی	۱۴۷
منابع ایجاد آلودگی در فرآورده‌های پروتئینی	۱۴۷
استریل سازی فرآورده‌های پروتئینی	۱۴۷
آلودگی‌های ویروسی محصول پروتئینی	۱۴۹
حذف و یا غیرفعال کردن ویروس‌ها	۱۵۰
استفاده از حرارت	۱۵۱
استفاده از اشعه	۱۵۲
فیلتراسیون	۱۵۲
عوامل شیمیایی	۱۵۲
روش کروماتوگرافی	۱۵۳
لایه‌های روش‌های ویروس زدائی	۱۵۳
آلودگی‌های پیروژنی	۱۵۳
تشخیص پیروژن	۱۵۵
تست خرگوش	۱۵۵
آزمون LAL	۱۵۵
غیرفعال کردن و حذف اندوتوکسین‌ها	۱۵۶
استفاده از حرارت	۱۵۶
روش کروماتوگرافی	۱۵۷
فیلتراسیون	۱۵۷
شستشو	۱۵۷
تقطیر	۱۵۷
آلودگی‌های DNA	۱۵۸
آلودگی‌های پروتئینی	۱۵۸
آلودگی‌های شیمیایی و متفرقه	۱۵۹
فرآورده‌های پروتئینی تجاری	۱۶۰
منابع	۱۶۳

پیش گفتار

پروتئین‌ها و پپتیدها در بدن نقش بسیار مهم و گسترده‌ای بر عهده دارند که از جمله می‌توان به کاتالیز واکنش‌های متابولیک، پاسخ به محرک‌ها، نقل و انتقال مولکول‌ها و تشکیل رسپتورها اشاره نمود. هرگاه هریک از این مولکول‌های حیاتی دچار تغییراتی شوند کارآیی آنها نیز تغییر می‌کند. این امر منجر به بروز ناهنجاری در سیستم بیولوژی خواهد شد که به دنبال آن نیاز به تهیه مولکول‌های درمانگر پروتئینی جدید را به همراه دارد.

فراورده‌های پروتئینی و پپتیدی علاوه بر مصارف درمانی، در کیت‌های تشخیصی و فراورده‌های غذایی نیز کاربرد دارند.

این فراورده‌ها برای عملکرد خود نیازمند ساختار خاص می‌باشند. بنابراین برای استفاده بهینه از آنان در پزشکی، داروسازی، صنایع غذایی و غیره دانستن اطلاعاتی در مورد ساختمان پپتیدها و پروتئین‌ها ضروری می‌باشد. در کتاب حاضر ساختمان، روش تهیه، چگونگی تخلیص، آنالیز، پایداری، فرمولاسیون و در نهایت استریل کردن فراورده‌های تزریقی پپتیدی و پروتئینی در فصل‌های جداگانه به همراه شکل و مثال توضیح داده شده است که می‌تواند به عنوان منبع درسی مناسبی برای دانشجویان رشته‌های مرتبط مورد استفاده قرار گیرد.

یادآوری این نکته ضروری است که این کتاب خالی از اشکال نبوده و نظرات ارزشمند شما ما را در برطرف کردن نقایص و ارائه مجموعه کامل تر در آینده یاری خواهد کرد.

در پایان از تلاش‌های نویسندگان همکار به خصوص اساتید گرامی جناب آقای دکتر محمد رضانی و آقای دکتر محمود رضا جعفری و نیز سایر اساتید محترمی که در طی سالیان از راهنمایی‌های ارزشمند آنان برخوردار بوده‌ام و همچنین از همسر و فرزندانم به خاطر صبر و شکیبائی شان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

دکتر مریم هاشمی

استادیار بیوتکنولوژی دارویی، مرکز تحقیقات نانوفناوری، دانشکده داروسازی مشهد