

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



مهندسی پروتئین

انتشارات
۸۴۳

دکتر احمد آسوده

استاد دانشگاه فردوسی مشهد

دکتر جمشیدخان چمنی

استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

فاطمه کوهزاد

سرشناسه: آسوده، احمد، ۱۳۵۰-
 عنوان و نام پدیدآور: مهندسی پروتئین/ احمد آسوده، جمشیدخان چمنی، فاطمه کوهزاد؛ ویراستار ادبی هانیه اسدیپور فعال مشهد.
 مشخصات نشر: مشهد: دانشگاه فردوسی مشهد، انتشارات، ۱۴۰۱.
 مشخصات ظاهری: ۳۶۰ ص: مصور، جدول، نمودار.
 فروست: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۸۴۳.
 شابک: ISBN: 978-964-386-536-8
 وضعیت فهرست‌نویسی: فایا.
 یادداشت: پشت جلد به انگلیسی: Protein Engineering.
 یادداشت: واژه‌نامه. کتابنامه. نمایه.
 موضوع: مهندسی پروتئین Protein engineering
 شناسه افزوده: چمنی، جمشیدخان، ۱۳۵۱ -
 شناسه افزوده: کوهزاد، فاطمه، ۱۳۶۲ -
 شناسه افزوده: دانشگاه فردوسی مشهد، انتشارات.
 رده‌بندی کنگره: TP۲۴۸/۶۵
 رده‌بندی دیویی: ۶۶۰/۶۳
 شماره کتابشناسی ملی: ۸۹۲۰۶۲۰

مهندسی پروتئین

پدیدآورندگان: دکتر احمد آسوده؛ دکتر جمشیدخان چمنی؛ فاطمه کوهزاد
 ویراستار ادبی: هانیه اسدیپور فعال مشهد
 مشخصات: وزیری، ۱۵۰ نسخه، چاپ دوم، زمستان ۱۴۰۲ (اول، ۱۴۰۱)
 چاپ و صحافی: چاپخانه دقت
 بها: ۲/۵۰۰/۰۰۰ ریال
 حق چاپ برای انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد محفوظ است.



انتشارات
۸۴۳

مراکز پخش:

فروشگاه و نمایشگاه کتاب پردیس: مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی مشهد، جنب سلف یاس
 تلفن: ۳۸۸۳۳۷۲۷ - ۳۸۸۰۲۶۶۶ (۰۵۱)
 مؤسسه کتابیران: تهران، میدان انقلاب، خیابان کارگر جنوبی، بین روانمهر و وحید نظری، بن‌بست
 گشتاسب، پلاک ۸ تلفن: ۶۶۴۸۴۷۱۵ (۰۲۱)
 مؤسسه دانشیران: تهران، خیابان انقلاب، خیابان منیری جاوید (اردیبهشت) نبش خیابان نظری، شماره ۱۴۲
 تلفکس: ۶۶۴۰۰۲۲۰ - ۶۶۴۰۰۱۴۴ (۰۲۱)

<http://press.um.ac.ir>

Email: press@um.ac.ir

فهرست مطالب

پیشگفتار	۱۱
مقدمه	۱۲
فصل ۱. مقدمه‌ای بر آنزیم‌ها و بهینه‌سازی آن‌ها	۱۳
۱-۱ مقدمه	۱۳
۲-۱ چگونگی عملکرد آنزیم‌ها در پیشبرد واکنش‌های زیستی	۱۶
۱-۲-۱ تغییر آنزیمی سیستم	۱۶
۲-۲-۱ جایگاه فعال آنزیم	۱۶
۳-۲-۱ اصل مجاورت	۱۸
۴-۲-۱ کاهش انرژی فعال‌سازی	۲۰
۵-۲-۱ کوفاکتور	۲۳
۳-۱ سازوکار واکنش‌های آنزیمی	۲۴
۱-۳-۱ کاتالیز اسید و باز	۲۴
۲-۳-۱ کاتالیز الکترواستاتیک	۲۵
۳-۳-۱ کاتالیز کوالان	۲۵
۴-۱ بهبود عملکرد آنزیم با هدف کاربرد در زمینه‌های گوناگون	۲۵
۱-۴-۱ استفاده از افزودنی‌ها	۲۶
۲-۴-۱ تغییرات شیمیایی	۲۷
۳-۴-۱ مهندسی پروتئین	۲۸
۵-۱ تثبیت آنزیم‌ها	۲۸
۱-۵-۱ تثبیت بازگشت‌پذیر	۳۰
۲-۵-۱ تثبیت بازگشت‌ناپذیر	۳۲
فصل ۲. تولید آنزیم در مقیاس صنعتی	۴۳
۱-۲ مقدمه	۴۳
۲-۲ منابع آنزیمی	۴۵
۳-۲ تولید آنزیم‌ها در مقیاس صنعتی	۴۶
۱-۳-۲ تخمیر غوطه‌ور	۴۷
۲-۳-۲ تخمیر حالت جامد	۴۹

۵۶..... ۳-۳-۲ مقایسه تخمیر غوطه‌ور با تخمیر حالت جامد.....

۵۶..... ۴-۳-۲ مهندسی پروتئین و نوترکیبی DNA.....

فصل ۳. کاربرد آنزیم‌ها در صنعت..... ۵۹.....

۵۹..... ۱-۳ مقدمه.....

۵۹..... ۲-۳ صنایع غذایی.....

۵۹..... ۱-۲-۳ صنعت نشاسته.....

۶۳..... ۳-۲-۲ صنعت پخت.....

۶۶..... ۳-۲-۳ صنایع لبنی.....

۶۹..... ۴-۲-۳ صنعت آب‌میوه.....

۶۹..... ۳-۳ صنایع نساجی.....

۷۲..... ۴-۳ صنعت چرم.....

۷۲..... ۵-۳ تولید سوخت‌های زیستی.....

۷۴..... ۶-۳ صنایع شوینده.....

۷۵..... ۷-۳ صنایع خمیر و کاغذ.....

۷۷..... ۸-۳ خوراک دام.....

فصل ۴. آنزیم‌درمانی..... ۸۱.....

۸۱..... ۱-۴ مقدمه.....

۸۲..... ۲-۴ درمان سرطان.....

۸۵..... ۳-۴ اختلالات گوارشی.....

۸۶..... ۴-۴ بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزوم.....

۸۷..... ۵-۴ التیام زخم.....

۸۹..... ۶-۴ تولید پنی‌سیلین.....

۹۰..... ۷-۴ سیکلودکستین و سیکلودکستین گلیکوزیل ترانسفراز.....

فصل ۵. سنتز شیمیایی پپتیدها..... ۹۵.....

۹۵..... ۱-۵ مقدمه.....

۹۶..... ۲-۵ سنتز پپتید.....

۹۷..... ۱-۲-۵ اصول سنتز پپتیدها بر روی فاز جامد.....

۱۰۷..... ۲-۲-۵ مزایا و معایب سنتز پپتید در فاز جامد.....

فصل ۶. طبقه‌بندی پپتیدها..... ۱۰۹.....

۱۰۹..... ۱-۶ مقدمه.....

۱۰۹	۲-۶ پپتیدهای ضد میکروبی
۱۱۱	۱-۲-۶ طبقه‌بندی پپتیدهای ضد میکروبی
۱۲۱	۳-۶ پپتیدهای نفوذکننده سلولی
۱۲۳	۱-۳-۶ طبقه‌بندی پپتیدهای نفوذکننده سلولی
۱۲۴	۲-۳-۶ طراحی پپتیدهای نفوذکننده به‌عنوان حامل عوامل درمانی
۱۲۵	۳-۳-۶ انتقال پپتیدهای نفوذکننده به درون سلول
۱۲۷	۴-۳-۶ انتقال مولکول‌های زیستی به درون سلول با استفاده از پپتیدهای نفوذکننده
۱۲۹	۵-۳-۶ کاربرد پپتیدهای نفوذکننده
۱۳۵	فصل ۷. کاربرد پپتیدها در حوزه درمان
۱۳۵	۱-۷ مقدمه
۱۳۶	۲-۷ بیماری‌های تحلیل‌رونده عصبی
۱۳۶	۳-۷ درمان سرطان
۱۳۸	۴-۷ واکسن‌های پپتیدی
۱۳۸	۵-۷ کاربرد پپتیدها در بیوتکنولوژی
۱۳۹	۶-۷ موانع پیش‌روی استفاده از پپتید به‌عنوان عامل درمانی
۱۴۰	۱-۶-۷ ترکیبات شبه‌پپتیدی
۱۴۷	فصل ۸. اصول کاربردی مهندسی پروتئین
۱۴۷	۱-۸ مقدمه‌ای بر مهندسی پروتئین
۱۴۸	۲-۸ اصول مهندسی پروتئین
۱۴۸	۱-۲-۸ شناسایی ویژگی‌های ساختاری و عملکردی پروتئین
۱۴۹	۳-۸ رویکردهای مهندسی پروتئین
۱۴۹	۱-۳-۸ مهندسی پروتئین با رویکرد طراحی هدفمند
۱۶۰	۲-۳-۸ مهندسی پروتئین با رویکرد غیرهدفمند یا تکامل مستقیم
۱۷۵	فصل ۹. روش‌های انتخاب و غربالگری
۱۷۵	۱-۹ مقدمه
۱۷۵	۲-۹ غربالگری جهش‌یافته خاص از میان کتابخانه پروتئینی
۱۷۵	۱-۲-۹ نمایش فاژی
۱۸۳	۲-۲-۹ نمایش ریبوزومی
۱۸۷	۳-۲-۹ نمایش mRNA
۱۸۹	۴-۲-۹ نمایش سطح مخمر

۱۹۳ ۵-۲-۹ نمایش لیپوزومی
۱۹۵ ۹-۲-۶ غربالگری فضایی گونه‌های مجزا
۱۹۷ ۷-۲-۹ غربالگری بر پایه قطرات امولسیون
۱۹۷ ۸-۲-۹ روش‌های غربالگری مبتنی بر پلیمرها
۱۹۹ ۹-۲-۹ میکروفلونیدیک
۲۰۰ ۱۰-۲-۹ فلوسایتومتری
۲۰۵ فصل ۱۰. برچسب تمایلی
۲۰۵ ۱-۱۰ جداسازی پروتئین‌ها با استفاده از برچسب تمایلی
۲۰۵ ۲-۱۰ انواع برچسب تمایلی
۲۰۶ ۱-۲-۱۰ پروتئین A
۲۰۷ ۲-۲-۱۰ گلوکوتایون S ترانسفراز
۲۰۷ ۳-۲-۱۰ پروتئین اتصال به مالتوز
۲۰۸ ۴-۲-۱۰ بتاگالاکتوزیداز
۲۰۸ ۵-۲-۱۰ ذمین اتصال به کیتین
۲۰۸ ۶-۲-۱۰ پپتید اتصال به کالمودولین
۲۱۰ ۳-۱۰ جداسازی برچسب پروتئینی
۲۱۰ ۱-۳-۱۰ برش پروتئین در جایگاه خاص
۲۱۰ ۲-۳-۱۰ برش خودبه‌خودی برچسب تمایلی
۲۱۰ ۴-۱۰ خالص‌سازی تمایلی پشت‌سرهم
۲۱۲ منابع
۲۱۵ فصل ۱۱. تغییر ویژگی‌های پروتئین‌ها با هدف کاربرد در زمینه درمان
۲۱۵ ۱-۱۱ مقدمه
۲۱۸ ۲-۱۱ طبقه‌بندی پروتئین‌های درمانی
۲۱۹ ۳-۱۱ چالش‌های پیشروی پروتئین‌های درمانی
۲۲۰ ۱-۳-۱۱ بهبود خواص فارموکینتیک و ایمنی‌زایی داروهای پروتئینی
۲۳۵ ۲-۳-۱۱ رویکردهای کاهش ایمنی‌زایی پروتئین‌های درمانی
۲۳۶ منابع
۲۳۹ فصل ۱۲. نمونه‌هایی از پروتئین‌های درمانی
۲۳۹ ۱-۱۲ مقدمه
۲۳۹ ۲-۱۲ آنتی‌بادی مونوکلونال

فهرست مطالب ۷

۲۴۴۱-۲-۱۲ سازوکار آنتی‌بادی مونوکلونال.....
۲۴۶۲-۲-۱۲ استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال در دارورسانی هدفمند.....
۲۴۷۳-۱۲ آنزیم‌درمانی برای اهداف خارج سلولی.....
۲۴۸۴-۱۲ پروتئین‌های درمانی به‌منظور جبران کمبود یا نقص پروتئین‌های طبیعی.....
۲۵۶فهرست منابع.....

فصل ۱۳. تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌ها..... ۲۵۹

۲۵۹۱-۱۳ تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌ها.....
۲۵۹۱-۱-۱۳ فسفوریله شدن.....
۲۶۹۲-۱-۱۳ استیله شدن.....
۲۷۰۳-۱-۱۳ آسپله شدن.....
۲۷۰۴-۱-۱۳ پرنیله شدن.....
۲۷۱۵-۱-۱۳ متیله شدن.....
۲۷۲۶-۱-۱۳ گلیکوزیله شدن.....
۲۷۴۷-۱-۱۳ سولفاتاسیون.....
۲۷۴۸-۱-۱۳ ADP-ریبوزیلاسیون.....
۲۷۵۹-۱-۱۳ اکسیداسیون گروه سولفیدریل سیستئین.....
۲۷۶۱۰-۱-۱۳ هیدروکسیله شدن گروه‌های عملکردی.....
۲۷۶۱۱-۱-۱۳ کربوکسیله شدن گلوتامیک اسید.....
۲۷۷۱۲-۱-۱۳ یوئیکوتینه شدن.....
۲۷۹۲-۱۳ تغییرات غیر آنزیمی گروه‌های عملکردی پروتئین‌ها.....
۲۷۹۱-۲-۱۳ گلیکاسیون.....
۲۷۹۲-۲-۱۳ حلقوی شدن خودبه‌خودی.....
۲۷۹۳-۲-۱۳ دامیداسیون و ترانس‌آمیداسیون.....
۲۸۱منابع.....

فصل ۱۴. تاخوردگی پروتئین‌ها..... ۲۸۳

۲۸۳۱-۱۴ مقدمه.....
۲۸۴۲-۱۴ تاخوردگی دوحالتی.....
۲۸۴۱-۲-۱۴ معمای لوینتال.....
۲۸۵۳-۱۴ مطالعه تاخوردگی پروتئین‌ها.....
۲۸۷۴-۱۴ کینتیک تاخوردگی پروتئین.....
۲۹۲۵-۱۴ مدل‌های تاخوردگی پروتئین.....

۲۹۲.....	۱۴-۵-۱ تشکیل ماریچ
۲۹۳.....	۱۴-۵-۲ مولتن گلوبولار
۲۹۳.....	۱۴-۵-۳ برهم کنش های آب گریز
۲۹۵.....	۱۴-۵-۴ قیف انرژی در تاخوردگی
۲۹۶.....	۱۴-۶ تبادل آمیدی و اندازه گیری تاخوردگی پروتئین
۳۰۱.....	۱۴-۷ سد کینتیکی موجود در تاخوردگی مجدد
۳۰۱.....	۱۴-۸ فاکتورهای مؤثر بر تاخوردگی
۳۰۳.....	منابع
فصل ۱۵. پایداری پروتئین ها و روش های مطالعه آنها	
۳۰۵.....	۱۵-۱ مقدمه
۳۰۶.....	۱۵-۲ عوامل مؤثر بر پایداری پروتئین
۳۰۹.....	۱۵-۳ پایداری ساختار پروتئین در حضور مواد غیرطبیعی کننده اوره و گوانیدینوم هیدروکلرید
۳۱۱.....	۱۵-۳-۱ چرا اوره موجب غیرطبیعی شدن پروتئین ها میشود؟
۳۱۱.....	۱۵-۳-۲ روش برون یابی خطی
۳۱۲.....	۱۵-۳-۳ نحوه آنالیز منحنی غیرطبیعی کننده اوره و گوانیدینوم هیدروکلرید
۳۱۳.....	۱۵-۴ سنجش پایداری حرارتی پروتئین ها
۳۱۹.....	منابع
فصل ۱۶. چاپرون های مولکولی	
۳۲۱.....	۱۶-۱ معرفی چاپرون های مولکولی
۳۲۴.....	۱۶-۲ ویژگی های عملکردی چاپرون های مولکولی
۳۲۵.....	۱۶-۳ طبقه بندی چاپرون های مولکولی
۳۲۹.....	۱۶-۳-۱ پروتئین های شوک حرارتی کوچک
۳۲۹.....	۱۶-۳-۲ پروتئین شوک حرارتی ۴۰ کیلودالتون
۳۳۰.....	۱۶-۳-۳ پروتئین شوک حرارتی ۶۰ کیلودالتونی
۳۳۲.....	۱۶-۳-۴ پروتئین شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی
۳۳۶.....	۱۶-۳-۵ پروتئین شوک حرارتی ۹۰ کیلودالتونی
۳۳۷.....	۱۶-۳-۶ پروتئین شوک حرارتی ۱۰۰ کیلودالتونی
۳۳۸.....	منابع
فصل ۱۷. شبیه سازی دینامیک مولکولی	
۳۴۱.....	۱۷-۱ مقدمه

۳۴۲ ۲-۱۷ مراحل شبیه‌سازی دینامیک
۳۴۳ ۱-۲-۱۷ مرحله آغازین
۳۴۴ ۲-۲-۱۷ حل معادله حرکت اتم‌ها و مولکول‌ها
۳۴۵ ۳-۲-۱۷ مکانیک آماری
۳۴۵ ۴-۲-۱۷ میدان نیرو
۳۴۷ ۵-۲-۱۷ مجموعه‌های ترمودینامیکی
۳۴۸ ۶-۲-۱۷ شبیه‌سازی در دما و یا فشار ثابت
۳۴۸ ۳-۱۷ تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی
۳۵۰ ۴-۱۷ کاربرد شبیه‌سازی دینامیک مولکولی
۳۵۱ ۵-۱۷ اهمیت روش شبیه‌سازی
۳۵۲ منابع
۳۵۴ واژه‌نامه
۳۵۹ نمایه

bress.um.ac.ir

پیشگفتار

پس از گذشت بیش از بیست سال تدریس و پژوهش در دانشگاه در زمینه فرایندهای شکل‌گیری و رفتاری پپتیدها، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها بر آن شدیم که تجربیات آموزشی و پژوهش خود را در زمینه ساختار و عملکرد آن‌ها به صورت کتاب در اختیار اساتید، پژوهشگران و دانشجویان گرامی قرار دهیم. از این رو، شروع به نگارش کتاب مهندسی پروتئین کردیم. مطالبی که در این کتاب عنوان شده است، حاصل تجربیات و تحقیقات مؤلفان بوده که به صورت مفهومی در زمینه ساختار و رفتار پپتیدها، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها نگارش یافته است، به طوری که با این بیان مفهومی، کتابی مشابه آن یافت نمی‌شود. این کتاب شامل هفده فصل است که تمامی موارد در زمینه پپتیدها، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها شامل نحوه ساخت، استخراج، عملکرد در محیط زنده، کاربرد صنعتی، رفتار در محیط زنده و عوامل تأثیرگذار از دیدگاه پایداری و فعالیت به طور مفهومی بیان شده است تا علاوه بر فراگیری اصول، کاربردهای درمانی و صنعتی آن‌ها نیز بررسی شود. پروتئین‌ها و آنزیم‌ها به عنوان درشت مولکول‌های حیاتی نقش عمده‌ای در پیشبرد و تسریع فرایندهای زیستی دارند که در الگوسازی در محیط غیرزنده به هدف استفاده بهینه از آن‌ها در محیط زنده نیازمند بررسی و مطالعه تمامی تغییرات ایجاد شده در ساختار و عملکرد آن‌هاست. از این رو، عوامل مختلفی بر روی ساختار و رفتار پروتئین‌ها و آنزیم‌ها تأثیرگذار است. نقش عوامل به منظور تغییر در پایداری و فعالیت آن‌ها که در مباحث مختلف درمانی و صنعتی استفاده می‌شود، به صورت مفهومی و کاربردی در این کتاب به تفصیل بررسی شده است. همچنین در این کتاب سعی شده است علاوه بر طرح موارد پایه، به مباحث کاربردی در زمینه پروتئین‌ها و آنزیم‌ها نظیر نقش آن‌ها در انتقال‌رسانی هوشمند داروها پرداخته شود. کتاب حاضر براساس سرفصل تعیین شده برای درس مهندسی پروتئین برای دانشجویان مختلف علوم زیستی در مقاطع کارشناسی، کارشناسی ارشد و دکترا نگارش یافته است که امید است مورد استفاده این عزیزان قرار گیرد. در پایان پیشنهادهای سازنده و مؤثر اساتید و دانشجویان گرامی مورد استقبال مؤلفان این کتاب قرار خواهد گرفت و به طور یقین از رهنمودهای سازنده تمامی عزیزان بهره خواهیم جست.

احمد آسوده

جمشیدخان چمنی

فاطمه کوهزاد

مقدمه

در زمینه مهندسی پروتئین، برای آنکه تمام سرفصل‌های مرتبط با پروتئین و آنزیم و نیز طراحی و عملکرد آن‌ها پوشش داده شود، لازم شد که فصل‌های مستقل و متنوعی در این زمینه در نظر گرفته شود. از این رو، در قالب بخش‌های اختصاصی، به مبانی پایه در زمینه پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، پپتیدها، پایداری و تاخوردگی پروتئین‌ها و تغییرات پس از ترجمه پرداخته شد. سپس تبیین رودیکردهای مهندسی پروتئین مورد بحث قرار گرفت. جنبه‌های کاربردی آنزیم‌ها، پپتیدها و پروتئین‌ها در حوزه‌های مختلف در فصول مجزای دیگر به تفصیل بیان شده است.

در فصل ۱ به مبانی و سازوکارهای آنزیمی، بهبود عملکرد و روش‌های تثبیت آنزیم‌ها پرداخته می‌شود. در فصل‌های ۲ و ۳ به روش‌های تولید انبوه و کاربرد صنعتی آنزیم‌ها در صنایع غذایی و دامی، نساجی، چرم، تولید سوخت‌های زیستی، شوینده و خمیر و کاغذ پرداخته شده است. کاربرد آنزیم‌ها در حوزه درمان بیماری‌ها در فصل ۴ آورده شده است. مبانی سنتز شیمیایی پپتیدها، طبقه‌بندی آن‌ها و کاربرد پپتیدها در حوزه درمان در فصول ۵ تا ۷ مطرح می‌شود. فصل ۸ به رویکردهای اصلی مهندسی پروتئین اختصاص دارد. روش‌های انتخاب و غربالگری در مهندسی پروتئین در فصل ۹ مطرح می‌شود. انواع برجسب‌های تمایلی در پروتئین‌های مهندسی‌شده در فصل ۱۰ آورده شده است. فصل ۱۱ به تغییر در ویژگی پروتئین‌های درمانی می‌پردازد و در ادامه در فصل ۱۳ نمونه‌های از پروتئین‌های درمانی آورده شده است. در فصل ۱۳ بیش از ده تغییر شیمیایی به صورت آنزیمی و غیر آنزیمی در پروتئین‌ها توضیح داده می‌شود. تاخوردگی پروتئین‌ها و الگوهای مربوط به آن در فصل ۱۴ مورد بحث قرار گرفته است. پایداری پروتئین‌ها و روش‌های سنجش آن در فصل ۱۵ مطرح می‌شود. در فصل ۱۶، چاپرون‌ها یا پروتئین‌های شوک حرارتی توضیح داده می‌شود و بالاخره موضوع شبیه‌سازی دینامیک مولکولی در فصل ۱۷ مطرح می‌شود.