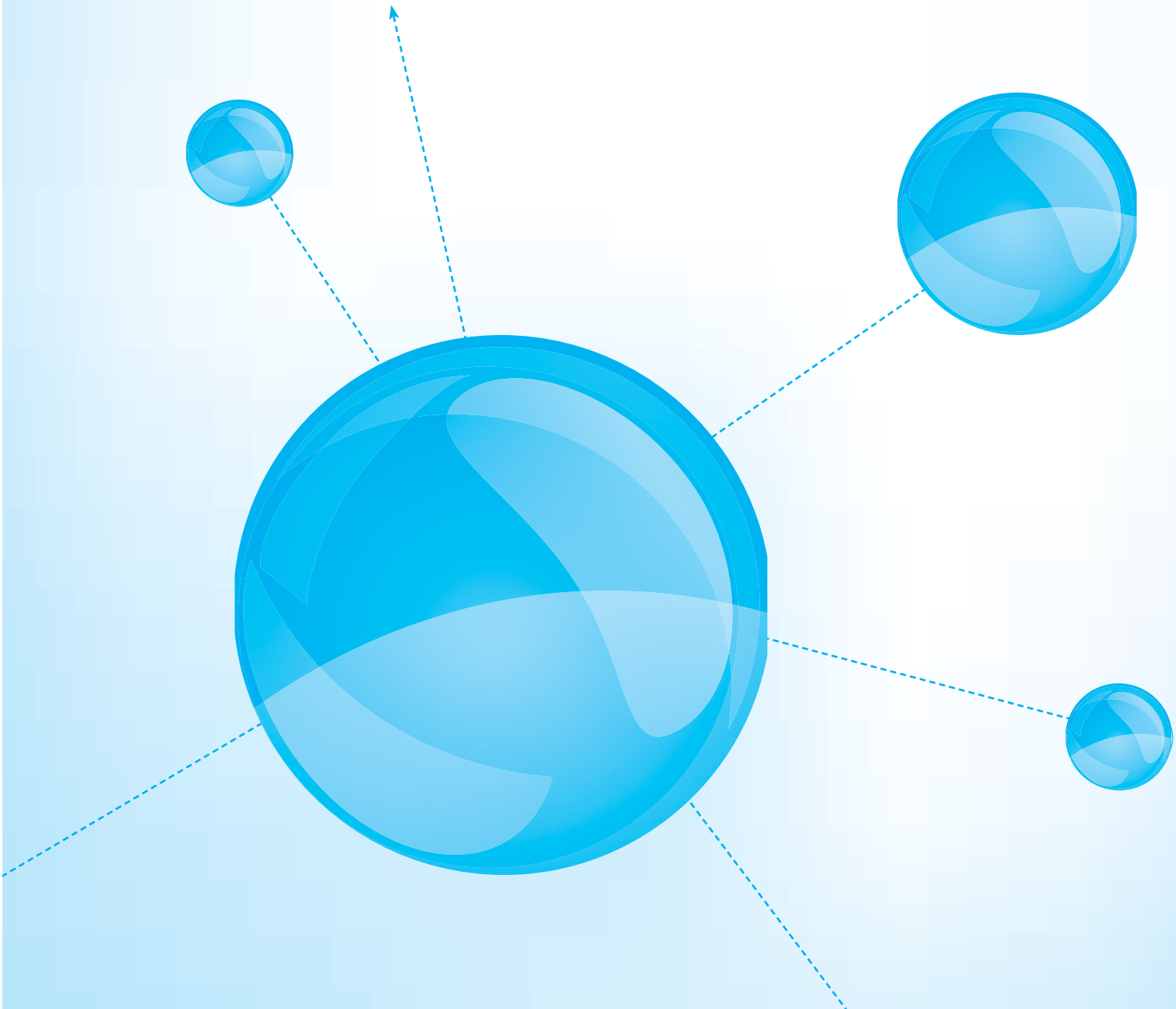
# نمودارنامه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی

تألیف، تدوین و گردآوری:
منصور عرب
ملیحه میرگلوی بیات



سرشناسه | عرب، منصور، ۱۳۶۱.
عنوان و نام پدیدآور | نمودارنامه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی/ تألیف، تدوین و گردآوری: منصور عرب، ملیحه میرگلوی بیات.
مشخصات نشر | تهران: انتشارات علمی سنا، ۱۳۹۷
مشخصات ظاهری | ۲۶۴ ص.: مصور (رنگی)، جدول (رنگی)، نمودار (رنگی)؛ ۲۲×۲۹ س‌م.
شابک | ۹۷۸-۶۰۰-۴۸۸-۱۵۲-۴
وضعیت فهرست نویسی | فیپا
موضوع | یاخته‌شناسی ـ ـ رئوس مطالب
موضوع | Cytology--Outlines, syllabi, etc
شناسه افزوده | زیست‌شناسی مولکولی ـ ـ رئوس مطالب
رده بندی کنگره | QH۵۸۱/۲/ع۴ ن۸ ۱۳۹۷
رده بندی دیویی | ۵۷۱/۶
شماره کتابشناسی ملی | ۵۳۷۸۳۱۸

مؤسسه علمی انتشاراتی سنا(سامانه نوین‌آموز)

نام کتاب | نمودارنامه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی
نویسنده | منصور عرب - ملیحه میرگلوی بیات
شابک | ۹۷۸-۶۰۰-۴۸۸-۱۵۲-۴
نوبت چاپ | اول ـ ۱۳۹۷
صفحه آرایی | سید محسن خضری
طراح جلد | علیرضا زمانی
پست الکترونیک | elmisana@gmail.com
فروش اینترنتی | sanabook.com
تیراژ | ۱۰۰۰ نسخه
قیمت | ۴۵۰۰۰ تومان

«شما می‌توانید کتاب‌های مؤسسه علمی انتشاراتی سنا را به صورت حضوری از کتابفروشی‌های سراسر کشور و یا از نمایندگی‌های مؤسسه سنا واقع در کلیه استان‌ها تهیه نمایید.»
آدرس نمایندگی‌ها در سایت sanapezeshki.com و یا انتهای کتاب درج شده است.

# مقدمه ناشر

**بسمه تعالی**

در طی چندین سال تحصیل و تدریس در علوم پزشکی به کرات به دانشجویان و داوطلبینی برخوردیم که علی‌رغم تلاش فراوان برای مطالعه و یادگیری مطالب پرحجم کتب علوم پزشکی، نمی‌توانند سر جلسه امتحان یا کنکور نتیجه مطلوب را بگیرند. با بررسی شیوه مطالعه این افراد به این نتیجه رسیدیم که بسیاری از آن‌ها توانایی دسته‌بندی و تفکیک مطالب و نگاه کل به جزء را در ذهن خود ندارند. آن‌ها فقط ملغمه‌ای از جملات و اسامی را در ذهن خود می‌سپارند و در نهایت پس از چندین بار مطالعه نتیجه مطلوب را کسب نمی‌کنند.

مشکل کجاست؟! مشکل این است که این افراد از ابتدا به مطالب به‌صورت جزء به جزء نگریسته‌اند، در حالی‌که قبل از فرود به جزیره ناشناخته درسی مثل سلولی و مولکولی می‌بایست از بالا مختصات کلی آن را در ذهن ترسیم کرد. دقیقاً مثل نرم‌افزار نقشه گوگل (google map) یک بار نمای کلی نقشه را با دیدن نام مناطق، اتوبان‌ها در نظر می‌گیرید و سپس بر روی فلان خیابان یا کوچه زوم می‌کنید. نگاه کل به جزء و دسته‌بندی شده در مطالعه نیز به همین صورت است. اگر شما مطالب را در قالب نکات مجزا حفظ کنید، هیچ وقت نمی‌توانید ارتباط آن‌ها را با یکدیگر متوجه شوید.

این مسئله ما را بر آن داشت که کتاب را بر این اساس برنامه‌ریزی و طراحی کنیم و با قبول زحمت بسیار نویسندگان عزیز، این اثر اکنون پیش روی شماست. تنها کاری که شما انجام می‌دهید، این است که کتاب را باز کنید و بخوانید!! خلاصه‌برداری نکنید، فقط سعی کنید ارتباط مطالب را با هم پیدا کنید و دیگر هیچ ...

**مدیریت مؤسسه علمی انتشاراتی سنا «سامانه نوین‌آموز»**

**دکتر هادی طغیانی - دکتر منیره ملکی**

تقدیم به:

امام زمان (عج)

و شهدای مدافع حرم به‌ویژه شهید زبرجدی

# مقدمه مؤلف

**بسمه تعالی**

خلاصه‌نویسی و دسته‌بندی مطالب، جزء نیازهای ضروری در مرور زیست‌شناسی می‌باشد، که زمان زیادی را نیز می‌گیرد. مؤلفین کتب و جزوات الگوریتم سعی دارند که برطرف‌کننده این نیاز مهم جویندگان علم باشند.

اما آنچه این اثر را از سایر آثار مشابه متمایز کرده می‌توان به جداول و اشکال منحصر بفرد، فرمول‌های آموزشی و زبان روان و گویا و تست‌های تألیفی آن اشاره کرد.

در این جا لازم می‌دانم از تمامی عزیزانی که بابت تألیف این اثر مرا یاری نمودند تشکر کنم، از همسرم، از پدر و مادرم، از جناب آقای خضری بابت طراحی فوق‌العاده و مسحورکننده‌شان، از مدیریت محترم مؤسسه علمی انتشاراتی سنا جناب آقای دکتر طغیانی، خانم دکتر ملکی و همکاران محترم واحد انتشارات.

امیدوارم که این اثر مورد پسند شما قرار بگیرد. با ما در ارتباط باشید.

**منصور عرب**

**عرفه ۹۷**

# فایل‌ها و فیلم‌های آموزشی کتاب

**با فراش و ثبت کد بالا در سایت** bookadds.ir **می‌توانید به موارد زیر دسترسی پیدا کنید:**

۱: دریافت فایل ویرایش های علمی و املایی کتاب
۲: لیست فیلم‌های آموزشی مربوط به کتاب در App کلاس همراه
۳: دانلود رایگان سؤالات ارشد و دکتری چند سال اخیر

**ویژگی فیلم‌های آموزشی:**
تدریس توسط نویسنده کتاب
بررسی نکته به نکته مباحث
آموزش روان و سلیس مطالب
صرفه‌جویی در زمان و دسترسی در هر مکان (تلفن همراه)
آموزش براساس اهمیت مطلب در کنکور سال‌های اخیر

# فهرست


| صفحه | عنوان فصل |
|---|---|
| ۱ | فصل یکم: مقدمه و تکنیک‌های سلولی مولکولی |
| ۱۳ | فصل دوم: غشا |
| ۲۵ | فصل سوم: ناقلین غشایی |
| ۳۹ | فصل چهارم: اسکلت سلولی |
| ۶۱ | فصل پنجم: اتصالات سلولی |
| ۷۷ | فصل ششم: انتقال پیام |
| ۱۰۳ | فصل هفتم: میتوکندری |
| ۱۱۷ | فصل هشتم: سایر اندامک‌ها |
| ۱۲۵ | فصل نهم: DNA |
| ۱۴۵ | فصل دهم: همانندسازی |
| ۱۵۳ | فصل یازدهم: جهش و ترمیم |
| ۱۶۳ | فصل دوازدهم: رونویسی |
| ۱۸۵ | فصل سیزدهم: ترجمه |
| ۱۹۵ | فصل چهاردهم: دسته‌بندی پروتئین‌ها |
| ۲۰۹ | فصل پانزدهم: نقل و انتقالات وزیکولی، اندوسیتوز و اگزوسیتوز |
| ۲۱۷ | فصل شانزدهم: تنظیم بیان ژن |
| ۲۳۳ | فصل هفدهم: سیکل سلولی، آپوپتوز و سرطان |

# ۱

# مقدمه و تکنیک‌های سلولی مولکولی

■ کوچکترین واحد ساختاری هر موجود زنده ← سلول

**انواع سلول‌های زنده**
- **پروکاریوت‌ها**: شامل: یوباکتری‌ها و آرکی باکتری‌ها / هسته ندارند.
- **یوکاریوت‌ها**: شامل: گیاهان، جانوران، قارچ‌ها و آغازیان / هسته و اندامک دارند.

■ سلول ها تقریبا از ۷۰٪ آب، ۱۵٪ پروتئین، ۶٪ RNA و مقدار کمتری از لیپید، DNA و مولکول های کوچک تشکیل شده‌اند.

**انواع ماکرومولکول‌ها**
- **پروتئین‌ها** ← واحد سازنده: اسیدهای آمینه
- **اسیدهای نوکلئیک** ← واحد سازنده: نوکلئوتیدها
- **پلی ساکاریدها** ← واحد سازنده: منوساکاریدها

پروتئین‌ها: فراوان‌ترین ماکرومولکول‌های سلول هستند. / عملکرد: متنوع

**اسیدهای آمینه**

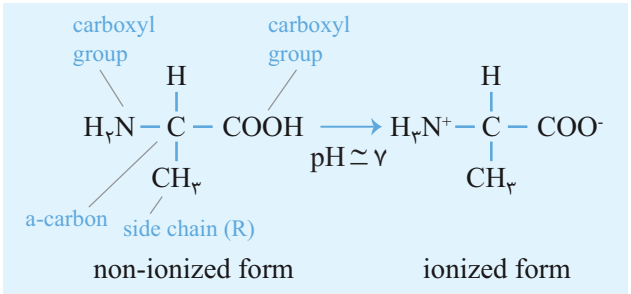
**نحوه نام‌گذاری:** براساس نحوه قرارگیری $NH_2$
- اگر در طرف چپ $C\alpha$ باشد ← نوع L ← اکثرا از این نوع می‌باشند.
- اگر در طرف راست $C\alpha$ باشد ← نوع D ← در برخی باکتری‌ها

**تقسیم‌بندی (براساس گروه R)**

**اسیدآمینه‌های آبگریز**
1. R آبگریز دارند ← قابلیت انحلال در آب ↓
2. **انواع**
   - الف) Rهای غیرحلقوی (آلیفاتیک) دارند: Ala، Val، Leu، Iso
   - ب) Rهای حلقوی (آروماتیک) دارند: Phe، Tyr، Trp

**اسیدآمینه‌های آبدوست (انواع)**
1. R قطبی (آبدوست) دارند
   - الف) دارای R با بار (-): Asp، Glu ← اسیدی
   - ب) دارای R با بار (+): Arg، Lys، His ← قلیایی
2. R قطبی و بدون بار دارند: Ser و Thr

**اسیدآمینه‌های خاص**
1. داشتن SH در R: Cys
   - الف) مهم در کاتالیز آنزیمی
   - ب) ایجاد پیوند دی سولفیدی = ↑ پایداری
2. R بسیار کوچک دارند: Gly (کوچکترین اسیدآمینه)
3. R حلقوی انعطاف‌ناپذیر دارند: Pro




**شکل ۱-۱.** اسکلت کلی اسیدهای آمینه

**تغییرات شیمیایی پروتئین‌ها**
- **استیلاسیون**: شایع‌ترین تغییر (در حدود ۸۰٪ پروتئین‌ها) / نقش: ↑ طول عمر
- **فسفریلاسیون**: OH: در Ser، Thr، Tyr ← توسط کیناز / N (نیتروژن): در His
- **گلیکوزیلاسیون** ← Ser، Thr، Asn ← در بسیاری از پروتئین‌های ترشحی و غشایی
- **دآمیناسیون**: Asn (آسپاراژین) ← Asp (آسپارتات) / Gln (گلوتامین) ← Glu (گلوتامات)
- **سایر تغییرات**: **هیدروکسیلاسیون:** Pro و Lys (در کلاژن) / **متیلاسیون:** His (در گیرنده‌های غشایی) / **γ- کربوکسیلاسیون:** Glu (در عوامل انعقادی مثل پروترومبین)

## ساختمان پروتئین

- **ساختمان اول:** نتیجه کنار هم قرار گرفتن خطی اسیدهای آمینه با اتصال کووالان (پیوند پپتیدی) ← زنجیره پلی پپتیدی
- **ساختمان دوم ثانویه**
  - حاصل تا خوردن موضعی و پایدار زنجیره پلی پپتیدی ← توسط پیوندهای هیدروژنی
  - **انواع**
    - ۱ **ساختارهای منظم**
      - الف **مارپیچ آلفا (α)**
        ۱. پایدارترین و رایج‌ترین شکل مارپیچی موجود در پروتئین‌هاست.
        ۲. برقراری پیوند هیدروژنی بین اسید آمینه‌های اول و چهارم هر مارپیچ
        ۳. ۳/۶ اسیدآمینه به ازای هر دور مارپیچ (طول هر پیچ = ۰/۵۴ nm)
        ۴. معمولا پرولین در این ساختار وجود ندارد.
      - ب **صفحه β**
        ۱. متشکل از قطعات کوتاه (۵ تا ۸ ریشه‌ای) که تقریبا به طور کامل باز شده
        ۲. برقراری پیوند هیدروژنی بین رشته‌های β مجزا ولی مجاور
      - پ **پیچه‌های β**
        ۱. معروفند به پیچ سنجاق سری
        ۲. چهار ریشه دارند (معمولا Gly و Pro دارند)
        ۳. با برقراری پیوند هیدروژنی بین اولین و چهارمین ریشه
    - ۲ **ساختارهای نامنظم**
      - الف ساختارهای منظم بالا را ندارند ولی به هر حال ساختارهایی پایدار و منعطف دارند.
      - ب مثل مارپیچ تصادفی
- **ساختمان سوم**
  - **چیست؟** شکل فضایی یک پروتئین کامل تک رشته می‌باشد.
  - عامل ایجاد ← پیوندهای غیر کووالان (واندروالس، الکترواستاتیک، هیدروفوب و هیدروژنی) ← انعطاف‌پذیری ↑
  - **انواع پروتئین‌ها**
    - ۱ **رشته‌ای**
      - الف ساختارهایی بلند و محکمی داشته، به آسانی در آب حل نمی‌شوند.
      - ب نقش ساختمانی دارند و در حرکت سلولی دخالت دارند.
      - پ مثال کلاژن (فراوان‌ترین پروتئین موجود در پستانداران)
    - ۲ کروی ← تاخوردگی ↑، در آب محلول هستند.
    - ۳ غشایی
    - ۴ **ذاتاً نامنظم**
      - الف **ویژگی‌ها**
        ۱. داشتن ساختار بسیار منعطف و نامنظم = شکل ثابتی ندارند (مهم برای عملکردشان)
        ۲. دچار تغییرات پس از ترجمه می‌شوند (مثل فسفریلاسیون، گلیکوزیلاسیون، برش و ...)
      - ب **نقش‌ها:** تنظیمی، داربستی و سیگنالینگ
      - پ **مثال‌ها:** CTD در RNA پلیمراز II، انتهای N در هیستون‌ها، بخش FH1 در فورمین
- **ساختمان چهارم:** عامل ایجاد ← اتصال غیر کووالان زیرواحدها در یک پروتئین چند زیرواحدی مثل هموگلوبین
- **کمپلکس‌های سوپر مولکولی:**
  - بالاترین سطح در سطوح ساختاری پروتئین‌هاست.
  - حاوی ده‌ها تا صدها زنجیره پلی پپتیدی می‌باشد. ← گاهی اوقات حاوی DNA و سایر بیوپلیمرها نیز هستند.
  - **مثال‌ها:** کپسید ویروسی، رشته‌های اسکلت سلولی، ریبوزوم، NPC و ...

## موتیف

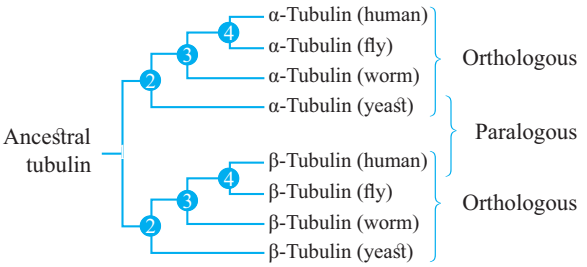
- **تعریف:** آمیزه‌ای از ساختار دوم و سوم پروتئین می‌باشد. ← به فصل تنظیم بیان ژن رجوع شود.
- **مثال:** زیپ لوسینی، HLH، HTH، EF-hand و ...

## دمین

- **واحدهای سازنده ساختار سوم**
- **انواع**
  - **عملکردی**
    ۱. ناحیه ای است که یک فعالیت خاص، که مشخصه آن پروتئین است را انجام می‌دهد.
    ۲. قابل شناسایی با پروتئازها و دستکاری ژنتیک
  - **ساختمانی**
    ۱. طولی در حدود ۴۰ اسیدآمینه دارد و حاوی ساختارهای دوم و سوم می‌باشد.
    ۲. قابل شناسایی با NMR و بلورنگاری با اشعه X
  - **توپولوژیکی** ← از طریق ارتباط فضایی مشخص خود با سایر نواحی پروتئین تعریف می‌شود.

**حالات تکاملی پروتئین‌ها**

- **هومولوگ**: چیستند؟ پروتئین‌هایی با نیای مشترک
  - **عمده‌ترین ملاک** ← تشابه در توالی یا ساختمان
    - ۱ **خانواده** ← بیش از ۳۰٪ تشابه
    - ۲ **ابر خانواده** ← تشابه کمتر از ۳۰٪
  - با داشتن یک یا چند دمین یا موتیف مشترک، جزو ابرخانواده محسوب می‌شود.
- **پارالوگ** ← توالی‌های انشعاب یافته در اثر تکثیر ژنی
- **ارتولوگ**: توالی‌های ایجاد شده در اثر افتراق گونه‌ای با احتمال بیشتری، عملکرد یکسان دارند (در مقایسه با دو توالی فوق)




**شکل ۲ـ۱.** مثالی از حالات تکاملی پروتئین‌ها

**آمیلوئیدوز**

- **تعریف:** گروهی از بیماری‌های مرتبط با رسوب آمیلوئیدها (پروتئین‌های فیبریلی غیرطبیعی) در سرتاسر بدن می‌باشد.
- **ویژگی آمیلوئیدها**
  - عمدتا در پیری تشکیل می‌شوند.
  - نقص در تاخوردن دارند.
  - به یکدیگر متصل شده ← ایجاد توده‌ای نامحلول از جنس صفحات β
  - به تجزیه آنزیمی مقاومند.
- **مثال‌ها**
  - **آلزایمر:** نقص در ۱ پروتئین پیش ساز آمیلوئید ۲ تائو (پروتئین مرتبط با میکروتوبول)
  - **پارکینسون**
  - **جنون گاوی** (آنسفالوپاتی اسفنجی شکل مسری) ← عامل ← پروتئین پریون (نوعی پروتئین عفونی)

**قندها**

- **مونوساکاریدها (قندهای ساده)**
  - واحد سازنده‌ی پلی ساکاریدها می‌باشند.
  - **مثال:** گلوکز، گالاکتوز، مانوز، فروکتوز و ...
- **دی ساکاریدها**
  - محصول اتصال دو مونوساکارید به هم می‌باشند.
  - **مثال**
    - ۱ لاکتوز (گلوکز + گالاکتوز) ← قند اصلی شیر
    - ۲ ساکارز (فروکتوز + گلوکز) ← قند معمولی (محصول اصلی فتوسنتز)
- **پلی ساکاریدها**
  - متشکل از ده‌ها تا صدها مونوساکارید می‌باشند.
  - **مثال‌ها**
    - ۱ گلیکوژن ← رایج‌ترین کربوهیدرات ذخیره‌ای در جانوران و پلیمری بسیار بلند و شاخه‌دار از گلوکز می‌باشد.
    - ۲ نشاسته ← پلیمری از α ـ گلوکز می‌باشد.
    - ۳ **سلولز**
      - الف پلیمری از β ـ گلوکز می‌باشد.
      - ب عمده‌ترین جزء ساختمانی دیواره سلول‌های گیاهی می‌باشد.
      - پ غیر قابل تجزیه توسط آنزیم‌های انسانی اما قابل تجزیه توسط باکتری‌ها و کپک‌ها
    - ۴ **پپتیدوگلیکان**
      - الف اتصال زنجیره پلی ساکاریدها به هم به وسیله پل‌های پپتیدی
      - ب قابل تجزیه با لیزوزیم
    - ۵ **گلیکوزآمینوگلیکان‌ها**
      - الف واحد سازنده آنها دایمر می‌باشد.
      - ب اتصال به گروه‌های کوچکی هم‌چون آمین، سولفات و استیل ← به طور کووالان

## سانتریفیوژ

دستگاهی است که در آن با استفاده از نیروی گریز از مرکز، مواد را از یکدیگر جدا می‌کند.

اولین مرحله تخلیص پروتئین‌هاست.

مولکول‌های سنگین‌تر، زودتر ته‌نشین می‌شوند.

**کاربرد**
- جداسازی اولیه یک ماده از سایر مواد
- اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی (مثل وزن مولکولی، چگالی، شکل و ثابت تعادل)

**انواع**

**افتراقی**[1]
1. رایج‌ترین مرحله آغازین تخلیص پروتئین‌ها
2. ته‌نشین کردن ذرات بزرگتر (اندامک‌ها و سلول‌ها)
3. استفاده از شیب چگالی برای جداسازی مولکول‌ها ← ایجاد شیب توسط محلول آگارز

**سرعتی - ناحیه‌ای / شیب چگالی**
1. **کاربرد:** جداسازی مولکول‌های با
   - الف) جرم متفاوت
   - ب) شکل و چگالی مشابه
   - پ) پلیمرها و ذرات مختلف
2. سانتریفیوژ شیب چگالی ـ تعادلی
   - الف) نوع دیگری از این سانتریفیوژها می‌باشد.
   - ب) کاربرد: تفکیک DNA، لیپوپروتئین‌ها و اندامک‌ها

## الکتروفورز

روشی برای جداسازی مولکول‌های موجود در مخلوط در اثر اعمال میدان الکتریکی می‌باشد.

**کاربرد:** مطالعه پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ← با جداسازی براساس نسبت

**انواع**

**دو بُعدی**
1. **اساس جداسازی**
   - الف) ابتدا براساس بار ← با استفاده از نقطه ایزوالکتریک (PI) و با تکنیک EF
   - ب) سپس براساس جرم (با ژل SDS)
2. **کاربرد:** جداسازی پروتئین‌های با جرم مشابه ولی با بار الکتریکی متفاوت

**SDS ژل پلی اکریلامید**
1. **کاربرد:** عمدتا برای جداسازی پروتئین‌ها ← پروتئین هرچه کوچکتر = سرعت عبورش ↑
   - جداسازی براساس جرم (اندازه یا وزن مولکولی) و شکل انجام می‌گیرد.
2. **مکانیسم:** محلول حاوی پروتئین‌ها +
   - الف) SDS
   - ب) حرارت
   - پ) احیاءکننده
   ⟸ تک رشته‌ای و دناتوره شدن پروتئین‌ها = جداسازی

**کروماتوگرافی مایع: انواع (LC)**
1. پالایش ژلی براساس اندازه (تخمین جرم)
2. تبادل یونی ← جداسازی براساس تفاوت در بار الکتریکی ← این طبقه‌بندی براساس ماهیت دانه‌های موجود در ستون می‌باشد.
3. میل اتصالی ← جداسازی براساس اتصال اختصاصی[2]

## طیف سنجی جرمی[3] (MS)

**کاربرد**
- تعیین دقیق جرم (وزن)
- تعیین توالی پروتئین‌ها

**یون کوچکتر** ← سرعت عبور ↑

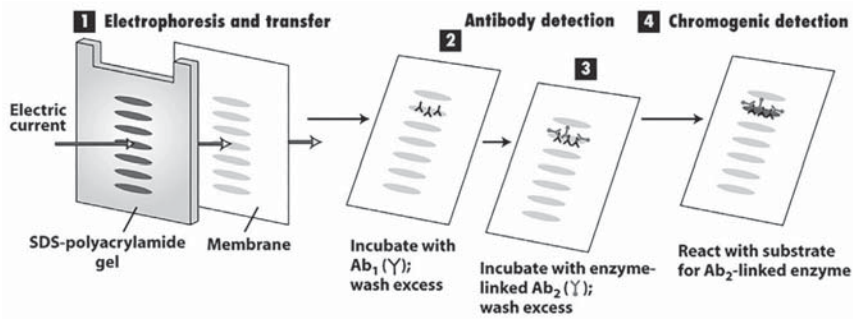
**انواع**
- MALDI - TOF
- الکترو اسپری (ES)

1. Differential
2. Affinity
3. Mass spectrometry

**روش LC-MS/MS**
- روشی قدرتمند مرکب از «کروماتوگرافی مایع (LC) + طیف سنجی جرمی (MS)» می باشد.
- **مکانیسم:** محلولی از پروتئین‌ها ← با پروتئازها مثل تریپسین ← هضم ← انجام LC ← جدایی اجزا ← انجام ES ← تحلیل پروتئین ها
- **کاربرد**
  - تعیین توالی و جرم پپتیدها
  - شناسایی پروتئین ها در هر اندامک

**روش‌های آشکارسازی پروتئین‌های موجود در ژل**
- **رنگ‌آمیزی**
  - رنگ‌های آلی (مثل آبی کوماسی) ← آشکارسازی مقادیر حدود ۱۰۰۰ ng
  - رنگ‌های پایه نقره ... حساسیت ↑ (آشکارسازی مقادیر حدود ۱ng)
  - فلورسانت
- **انتقال به غشا** (از جنس نیترو سلولز یا دی فلوراید پلی وینلیدن) ← رایج‌ترین روش ← ایمونوبلاتینگ (وسترن بلات)

**وسترن بلات**
- **کاربرد:** جدایی پروتئین‌ها و سپس شناسایی یک پروتئین خاص
- **مراحل**
  - الکتروفورز
  - افزودن Ab ← Ab = آنتی بادی
    1. Ab اولیه (اختصاصی ضد پروتئین مدنظر)
    2. Ab ثانویه (که نشاندار و ضد Ab اولیه است)
  - شناسایی پروتئین مورد نظر (تعیین جرم و مقدار آن)




**شکل ۳-۱.** مراحل وسترن بلات

**شناسایی**
- پروتئین ← وسترن بلات
- **DNA** ← ساترن بلات و PCR (PCR، رایج‌ترین ترین روش و ساترن بلات برای نمونه‌های پیچیده‌تر DNA می‌باشد)
- **RNA** ← نورتن بلات

**ترسیب ایمنی (IP)[1]**
- **چیست؟** استفاده از Ab برای جداسازی پروتئین موردنظر
- **مراحل:** افزودن Ab به محلول ← سانتریفیوژ = رسوب کمپلکس «Ab + پروتئین موردنظر» ← جداکردن Ab ← بررسی ساختمان پروتئین
- **Co-IP** (ترسیب هم‌زمان) ← کاربرد ← بررسی ساختارهای چهارم و کمپلکس‌های سوپر ملکولی

**اتورادیوگرافی**
- تکنیک نیمه کمّی برای تشخیص ملکول‌های نشان‌دار شده با رادیواکتیو (رادیوایزوتوپ‌ها) می‌باشد.
- **مثال‌هایی از کاربردهای رادیوایزوتوپ‌ها**
  - متیونین و سیستئین نشان‌دار شده با $^{35}S$ ← ردیابی پروتئین‌های سلولی
  - نوکلئیک اسیدهای نشان‌دار شده با $^{3}H$
  - ATP نشان‌دار شده با $^{32}P$ ← بررسی عملکرد کینازها
  - $^{125}I$ اتصال کووالان به تیروزین

**هیبریدسازی در محل**
- **ویژگی**
  - نوعی تکنیک اتورادیوگرافی می‌باشد.
  - ردیابی توالی‌های اختصاصی، با استفاده از پروب‌های اختصاصی
- **کاربرد**
  - شناسایی توالی mRNA و DNA ... در سلول زنده
  - بررسی رونویسی

1. Immuno precipitation

■ کاربرد روش نشان‌گذاری ـ رهگیری (**pulse - chase**) ← ردیابی تغییرات یک پروتئین و جابجایی آن در یک سلول زنده می باشد.

**جدول ۱-۱.** انواع رادیوایزوتوپ‌ها

| ISOTOPE | HALF-LIFE |
|---|---|
| Phosphorus -32 | 14.3 days |
| Iodion -125 | 60.4 days |
| Sulfur -35 | 87.5 days |
| Tritium(hydrogen -3) | 12.4 years |
| Carbon -14 | 5730.4 years |

**روش‌های شناسایی ساختار سه بُعدی پروتئین**

- **بلورنگاری با اشعه X** ← نیاز به کریستالیزاسیون دارد / نمایش با بیشترین جزئیات ساختمانی ← تعیین محل قرارگیری اتم‌ها
- **میکروسکوپ کرایوالکترونی** ← تعیین ساختمان پروتئین‌های چند زیرواحدی و یا متصل به غشا (که کریستالیزاسیونشان سخت می‌باشد).
- **طیف سنجی NMR** ← عدم نیاز به کریستالیزاسیون / تعیین ساختمان پروتئین‌های کوچک ← تعیین فاصله بین اتم‌ها

**مراحل آماده‌سازی نمونه برای مشاهده با میکروسکوپ نوری**

- **تثبیت** ← با فرمالدهید
- **برش** ← بوسیله میکروتوم
- **رنگ آمیزی** ← با رنگ‌هایی مثل
  - **هماتوکسیلین:** اتصال به اسیدهای آمینه بازی (Lys و Arg) پروتئین‌ها
  - **ائوزین:** اتصال به مولکول‌های اسیدی (مثل DNA و Asp و Glu در پروتئین‌ها)

■ قدرت تفکیک[1] میکروسکوپ نوری در حدود ۰/۲ میکرومتر است = محدودیت !

■ با میکروسکوپ‌های فاز کنتراست و DIC ← مشاهده ← سلول زنده و رنگ‌آمیزی نشده / حرکات سلولی (با روش time- laps)

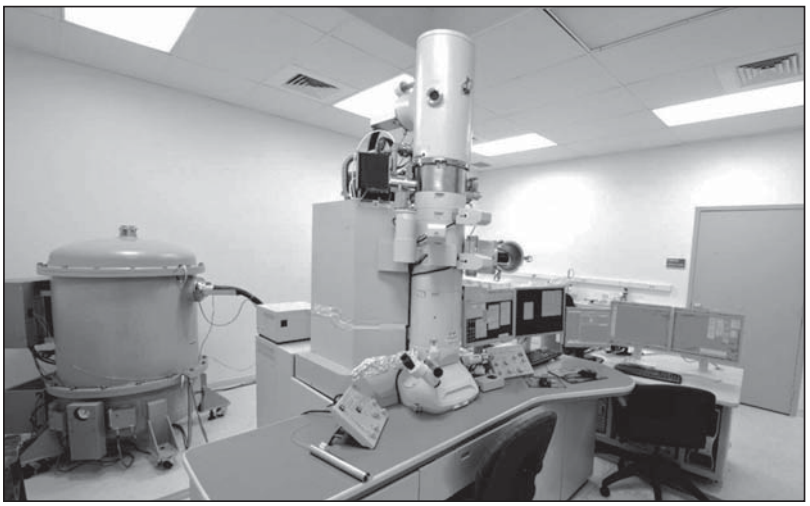
**انواع میکروسکوپ فلورسانت**

- قوی‌ترین روش برای تعیین موقعیت پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک
- رایج‌ترین روش برای شناسایی اختصاصی پروتئین‌ها ← با استفاده از Ab نشان‌دار مثل: ← روش IFA رایج‌ترین روش ← Ab ضد پروتئین / Ab نشان‌دار ضد Ab اولی
- تعیین سطح داخلی سلولی
  - $Ca^{2+}$ ← با رنگ Fura - 2
  - $H^+$ ← با رنگ SNARF-1

  ← با این روش مشخص شد در جلوی سلول مهاجر، $Ca^{2+}$ زیاد و در عقب اندک است
- پایش PH سیتوزولی سلول‌های زنده و رنگ‌آمیزی اختصاصی میتوکندری و لیزوزوم در این سلول‌ها ← با SNARF
- مشاهده موقعیت و توزیع پروتئین‌های خاص با استفاده از GFP ← پروتئینی فلورسانت و به رنگ سبز می‌باشد.
- میکروسکوپ های **هم کانون** و **Deconvulution** ← مشاهده تصاویر فلورسانت بصورت سه بعدی و شفاف تر
- **TRIF** ← نمایش با وضوح بالای نمونه‌های مجاور لام (بررسی کینتیک تشکیل و تجزیه میکروفیلامنت‌ها و میکروتوبول‌ها)
- **FRAP** ← آشکار کردن دینامیک سلولی
- **FRET** کاربرد:
  - مشاهده تعاملات پروتئین-پروتئین (مثل اندازه‌گیری فعالیت موضعی یک کیناز خاص)
  - اندازه‌گیری غلظت و موقعیت $Ca^{2+}$
  - بررسی فعالیت پروتئین‌های GTPase و کینازها
- **با تفکیک عالی**: ایجاد تصاویر فلورسانت با قدرت تفکیک در حد نانومتر (یعنی رفع محدودیت میکروسکوپ‌های نوری از جمله فلورسانت)
  - انواع:
    1. **SIM**[2] ← حد تفکیک ≅ ۱۰۰ nm
    2. **STED**[3] ← حد تفکیک ≅ ۳۰ nm
    3. **PALM**[4] ← مشاهده تصویر سه بعدی با وضوح بالاتر از میکروتوبول‌ها (نسبت به سایر میکروسکوپ‌های فلورسانت)
- **تصویر نوری**
  - **مکانیسم:** به نمونه از کنار، پرتوافکنی شده و سپس در جهت قائم مشاهده می شود.
  - **ویژگی:** امکان تصویربرداری از عمق نمونه و از نمونه‌های ضخیم / وقایع سریع در بافت زنده را تصویربرداری می‌کند.

1. Resolution
2. Structurel illuminution microscopy
3. Stimulated emission depletion microscopy
4. Photo-activated localization microscopy

- ژن‌های گزارشگر در بیان پروتئین
  - GFP
  - β گالاکتوزیداز
  - لوسیفراز
- **برچسب اپی توپ**
  - **چیست؟** پپتیدی کوتاه است که دارای توالی اسیدآمینه ای خاص می باشد.
  - **مثال ها:** FLAG و myc
  - **مکانیسم:** اتصال توالی کد کننده برچسب به توالی کد کننده پروتئین ← با بیان پروتئین، برچسب نیز تولید می شود. لذا با Ab ضد برچسب محل پروتئین را مشخص می کنند.
  - **کاربرد:** در میکروسکوپ فلورسانس نشانه‌گذاری دوگانه (نوعی IFA می‌باشد)
- **میکروسکوپ‌های الکترونی**
  - **اصول کلی‌شان شبیه میکروسکوپ‌های نوری است**
    - تفاوت ←
      - استفاده از الکترون‌ها (به جای نور مرئی)
      - استفاده از لنزهای الکترومگنتیک (به جای لنزهای نوری)
    - هرچه سرعت $e^-$ ↑ = طول موج ↓ تر = ↓ قدرت تفکیک = ↑ بزرگنمایی
  - **انواع**
    - **TEM یا گذاره**
      1. گذر الکترون‌ها از نمونه بسیار نازک ← شکل‌گیری تصویر بر آشکارساز
      2. قدرت تفکیک ← ۲nm
      3. **کاربرد:** مشاهده دقیق
         - الف) ماکرومولکول‌ها (مثل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک)
         - ب) ساختارها (مثل رشته‌های اکتینی و میکروتوبولی)



    - **SEM یا نگاره**
      1. **روش‌های مشاهده نمونه**
         - الف) رنگ‌آمیزی منفی
         - ب) سایه‌زنی فلزی ← مشاهده جزئیاتی از سطح نمونه
      2. نمایش تصویر سه بعدی از سطح یک نمونه برش نخورده (نمایش مناسب میکروویلی‌ها)
      3. **قدرت تفکیک:** ۱۰ nm
    - **HVEM یا با ولتاژ بالا**
      1. اساس ساختمانی و عملکردش مشابه TEM ← عبور پرتو از نمونه و ایجاد تصویر
      2. تفاوت با TEM ← ولتاژ بالای HVEM (۲۰ تا ۴۰ برابر بیشتر)
         - الف) اثر بزرگنمایی ↑ تر از TEM
         - ب) عدم نیاز به خلا (برخلاف TEM و SEM)
    - **میکروسکوپ کرایوالکترونی**
      1. مشاهده ذرات بدون تثبیت کردن و رنگ‌آمیزی
      2. تهیه مدل سه بعدی از ساختارها، اندامک‌ها یا سلول‌هایی که کریستالیزه کردنشان سخت می‌باشد.

مثل ریبوزوم، پمپ $Ca^{2+}$

**جدول ۲-۱.** انواع داروهای مورد استفاده در تحقیقات زیست شناسی سلولی

| | |
|---|---|
| مهارگران همانندسازی DNA | آفی‌دیکولین[۱] (مهارگر DNA پلیمرازیوکاریوتی)، کامتوتسین[۲]، اتوپوزید[۳] (مهارگر توپوایزومراز از یوکاریوتی) |
| مهارگران رونویسی | α- آمانیتین (مهارگر RNA پلیمراز II یوکاریوتی)، اکتینومایسین D، دی کلرو ریبوفورانوزیل بنزیمیدازول (مهارگر فاکتور طویل‌سازی رونویسی)؛ ریفامپین (مهارگر RNA پلیمراز باکتریایی)؛ تیولتین[۴] (مهارگر RNA پلیمراز باکتری و مخمر). |
| مهارگران سنتز پروتئین | سیکلوفسفامید، آنیسومایسین (مهارگر ترجمه در یوکاریوت‌ها)؛ جنیتسین[۵] / G418، هایگرومایسین[۶]: پوررومایسین (مهارگر ترجمه در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها)؛ کلرامفنیکل (مهارگر ترجمه در باکتری و میتوکندری)؛ تتراسایکلین (مهار ترجمه در باکتری) |
| مهارگران پروتئاز: بلوکه کردن تخریب پروتئین | MG-132، لاکتاسیتین (مهارگر پروتئازوم)؛ E-84، لوپپتین (مهارگران سرین و یا سیستئین پروتئازها)؛ فنیل متان سولفونیل فلوراید (PMSF) (مهارگر سرین پروتئاز)؛ توسیل- L- لیزین کلرومتیل کتون (TLCK) (مهارگر شبه سرین پروتئاز) |
| ترکیبات مؤثر بر اسکلت سلولی | فالوئیدین (پایدارکننده F-اکتین)؛ لاترونکولین، سیتوکالازین (مهارگر پلیمریزاسیون F-اکتین)؛ تاکسول (پایدارکننده میکروتوبول)؛ کلشی سین، ناکودازول، وین بلاستین، پودوفیلاتوکسین (مهارگران پلیمریزاسیون میکروتوبول)؛ موناسترول (مهارگر کاینزین ۵) |
| ترکیبات مؤثر بر ترافیک غشایی، حرکات داخلی سلولی و مسیر ترشحی، گلیکوزیلاسیون پروتئین | برفلدین A (مهارگر ترشح)؛ لپتومایسین B (مهارگر صدور پروتئین از هسته)؛ دینوسور[۷] (مهارگر دینامین)؛ تونیکامایسین (مهارگر گلیکوزیلاسیون از نوع N) |
| مهارگران کینازها | جنیسیتین[۸]، راپامایسین، گلوک[۹] (مهارگران تیروزین کینازها)، ورتامانین[۱۰]، LY294002، (مهارگران P13 کیناز)؛ استاروسپورین[۱۱] (مهارگر پروتئین کیناز)؛ رسکویتین[۱۲] (مهارگران CDK1 و CDK2 چرخه سلولی)؛ U0126 (مهارگر MEK) |
| مهارگران فسفاتاز | سیکلوسپورین A، FK506، کالیکولین[۱۳] (مهارگر فسفاتازها)؛ اکادائیک اسید[۱۴] (مهارگر عمومی سرین/ ترئونین فسفاتازها)؛ فنیل ارسین اکساید، سدیم ارتووانادات (مهارگر تیروزین فسفاتازها) |
| ترکیبات مؤثر بر غلظت درون سلولی cAMP | فورسکولین (فعال‌کننده آدنیلات سیکلاز) |
| ترکیبات مؤثر بر یون‌ها (مثل $K^+$،$Ca^{2+}$) | A23187 (یونوفور $Ca^{+2}$)؛ والینومایسین (یونوفور $K^+$)؛ BAPTA (ترکیب متصل‌شونده به کاتیون دو ظرفیتی مثل $Ca^{+2}$)؛ تاپسی گارگین[۱۵] (مهارگر پمپ $Ca^{+2}$ شبکه سارکوپلاسمی)؛ اوآبائین[۱۶] (مهارگر $Na^+/K^+$ATPase) |
| برخی از داروهای مورد استفاده در پزشکی | پروپرانولول (آنتاگونیست گیرنده β- آدرنرژیک)؛ استاتین‌ها (مهارگران HMG-CoA ردوکتاز، سنتز کلسترول را بلوکه می‌کند)؛ امپرازول (مهارگر پمپ پروتون معده) |

1. Aphidicolin
2. Camptothecin
3. Etoposide
4. Thiolution
5. Geneticine
6. Hygromycin
7. Dynasove
8. Genistein
9. Gleevec;
10. Wortamannin
11. Staurosporine
12. Roscovitvine
13. Calyculin
14. Ocadaic acid
15. Thapsigargine
16. Ouabain

## خودآزمایی

**۱ گزینه غلط کدامیک از موارد زیر می باشد؟**

الف) آب و پروتئین به ترتیب فراوانترین مولکول و ماکرومولکول سلول هستند.
ب) عمده پروتئین‌ها از نوع L هستند.
ج) اسید آمینه‌های آلیفاتیک، جزء اسیدآمینه‌های آبدوست می باشند.
د) گلیسین به‌عنوان کوچکترین اسیدآمینه، دارای یک $H^+$ به‌عنوان زنجیره جانبی می‌باشد.

**۲ کدامیک از اسیدآمینه‌های زیر باردار نیستند؟**

الف) آسپارتات ب) آرژنین
ج) لیزین د) گلوتامین

**۳ شایعترین تغییر شیمیایی اسیدهای‌آمینه کدام گزینه زیر می‌باشد؟**

الف) گلیکوزیلاسیون ب) استیلاسیون
ج) فسفریلاسیون د) دآمیناسیون

**۴ کدامیک از اسیدآمینه‌های زیر دچار فسفریلاسیون نمی‌شود؟**

الف) آسپاراژین ب) سرین
ج) ترئونین د) تیروزین

**۵ کدامیک از اسیدآمینه‌های زیر دچار گلیکوزیلاسیون نمی‌شود؟**

الف) آسپاراژین ب) سرین
ج) ترئونین د) تیروزین

**۶ کدامیک از تغییرات زیر در افزایش عمر پروتئین‌ها نقش بسزایی دارد؟**

الف) استیلاسیون ب) هیدروکسیلاسیون
ج) فسفریلاسیون د) $\gamma$–کربوکسیلاسیون

**۷ کدامیک از اسیدآمینه‌های زیر دچار دآمیناسیون می‌شود؟**

الف) پرولین ب) سرین
ج) گلوتامین د) آرژنین

**۸ عامل ایجاد ساختمان دوم پروتئینی، پیوند.....می‌باشد.**

الف) کووالان ب) هیدروژنی
ج) واندروالس د) یونی

**۹ رایجترین ساختمان دوم پروتئین، کدام گزینه می‌باشد؟**

الف) مارپیچ ب) صفحات $\beta$
ج) پیچه $\beta$ د) مارپیچ تصادفی

**۱۰ کدامیک از اسیدآمینه‌های زیر در ساختار دوم دیده نمی‌شود؟**

الف) سرین ب) گلیسین
ج) آسپاراژین د) پرولین

**۱۱ پروتئین‌های با تشابه زیر ۳۰٪، .....نامیده می‌شوند.**

الف) ابرخانواده ب) خانواده
ج) پارالوگ د) ارتولوگ

**۱۲ در بین توالی‌های زیر پروتئین‌های .....عملکردشان بیشتر شبیه هم می‌باشد.**

الف) ابرخانواده ب) خانواده
ج) پارالوگ د) ارتولوگ

**۱۳ توالی‌هایی که ناشی از افتراق گونه‌ای به وجود آمده‌اند، چه نامیده می‌شوند؟**

الف) ابرخانواده ب) ارتولوگ
ج) پارالوگ د) خانواده

**۱۴ اولین مرحله مرسوم در تخلیص پروتئین ها .....، می‌باشد.**

الف) سانتریفیوژ ب) الکتروفورز
ج) کروماتوگرافی د) طیف سنجی جرمی

**۱۵ برای تفکیک DNA، لیپوپروتئین‌ها و اندامک از تکنیک.....استفاده می‌شود.**

الف) کروماتوگرافی ب) الکتروفورز
ج) سانتریفیوژ د) طیف‌سنجی جرمی

**۱۶ پروتئین‌ها در روش الکتروفورزSDS ژل پلی‌اکریلامید، براساس ..... از یکدیگر جدا می‌شوند.**

الف) بار ب) افینیتی
ج) جرم د) همه موارد

**۱۷ در الکتروفورز دو بعدی، پروتئین‌ها ابتدا براساس ..... و سپس ..... تفکیک می‌شوند.**

الف) بار ـ بار ب) بار ـ اندازه
ج) اندازه ـ جرم د) اندازه ـ اندازه

**۱۸ در کدام روش، پروتئین‌ها براساس اندازه جدا می‌شوند؟**

الف) ion-exchange
ب) gel filteration
ج) affinity chromatography
د) mass Spectrometry

**۱۹ در کدامیک از روش‌های زیر، از آنتی‌بادی اختصاصی برای جداسازی پروتئین‌ها استفاده می‌شود؟**

الف) ion-exchange
ب) gel filteration
ج) affinity chromatography
د) electropheresis

**۲۰ روش LC-MS/MS شباهت به .....دارد.**

الف) کروماتوگرافی مایع ب) الکتروفورز
ج) طیف سنجی جرمی د) الف وج

**۲۱ از تکنیک‌های ساترن بلات و نورتن بلات برای شناسایی اختصاصی .....و ..... استفاده می شود.**

الف) پروتئین ـ RNA ب) DNA ـ پروتئین
ج) DNA و RNA د) پروتئین ـ پروتئین

**۲۲ برای شناسایی اختصاصی در مخلوطی از پروتئین‌ها از.....استفاده می‌شود.**

الف) ساترن بلات ب) وسترن بلات
ج) طیف سنجی جرمی د) نورتن بلات

**۲۳ کدام گزینه در شناسایی ساختار سه بعدی پروتئین‌ها، کاربرد ندارد؟**

الف) فلوسایتومتری ب) بلورنگاری با اشعه x
ج) میکروسکوپ کرایوالکترونی د) طیف‌سنجی NMR

**۲۴ کدامیک از روش های زیر ، نوعی روش MS می باشد؟**

الف MALDI-TOF ب ساترن بلات
ج NMR د pulse-chase

**۲۵ از کدامیک از رنگ‌های زیر در آشکارسازی پروتئین‌ها، در وسترن بلات استفاده نمی‌شود؟**

الف آبی کوماسی ب قرمز کنگو
ج رنگ‌های پایه نقره د فلورسانت

**۲۶ از رنگ‌آمیزی منفی در کدامیک از میکروسکوپ‌های زیر استفاده می‌شود؟**

الف DIC ب هم کانون
ج TEM د کرایوالکترونی

**۲۷ از.....برای تعیین ساختمان پروتئین‌های چند زیرواحدی یا متصل به غشا استفاده می شود.**

الف بلورنگاری با اشعه X ب طیف‌سنجی NMR
ج میکروسکوپ کرایو الکترونی د فلوسایتومتری

**۲۸ با استفاده از..... رونویسی ژن را در سلول زنده می‌توان بررسی کرد.**

الف نورتن بلات ب NMR
ج ساترن بلات د هیبریدسازی درجا

**۲۹ کدامیک از موارد زیر از کاربردهای FACS نمی‌باشد؟**

الف کریستالیزاسیون پروتئین‌ها
ب جداسازی، شمارش و تعیین شکل سلول‌ها
ج اندازه‌گیری محتوای RNAی سلول
د پایش همانندسازی DNA

**۳۰ قویترین روش برای تعیین موقعیت پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک درون سلول، .....می‌باشد.**

الف وسترن بلات ب میکروسکوپ فلورسانس
ج میکروسکوپ نوری د FACS

**۳۱ با استفاده از ..... تصاویر با قدرت تفکیک در حد نانومتر را می‌توان مشاهده کرد.**

الف تکنیک FRET ب تکنیک PALM
ج فاز کنتراست د DIC

**۳۲ برای مشاهده تعاملات پروتئین- پروتئین از .....استفاده می شود.**

الف تکنیک FRET ب تکنیک PALM
ج فاز کنتراست د SEM

**۳۳ کدامیک از میکروسکوپ‌های زیر، تصویری سه بعدی از نمونه را ارائه نمی‌کند؟**

الف DIC ب Confocal
ج کرایوالکترونی د SEM

**۳۴ کدامیک از میکروسکوپ‌های زیر، برای مشاهده سلول‌های زنده کاربرد ندارد؟**

الف DIC ب Confocal
ج کرایوالکترونی د HVEM

**۳۵ کدامیک از میکروسکوپ‌های زیر، از هیچ نوع رنگی برای شناسایی ذرات استفاده نمی‌کند؟**

الف ایمنوالکترون ب TEM
ج SEM د کرایوالکترونی

**۳۶ در کدامیک از میکروسکوپ‌های الکترونی زیر، از آنتی‌بادی‌های نشاندار استفاده می‌شود؟**

الف TEM ب ایمنوالکترون
ج کرایوالکترونی د SEM

**۳۷ در کشت سلول، ..... به‌عنوان تامین‌کننده نیتروژن افزوده می‌شود.**

الف PHA ب آگارز
ج گلوتامین د اریتروپوئتین

**۳۸ حد تفکیک یک میکروسکوپ نوری که از نور مرئی استفاده می‌کند، چقدر است؟**

الف ۲۰۰میکرومتر ب ۲۰میکرومتر
ج ۲میکرومتر د ۰/۲میکرومتر

**۳۹ رایجترین روش در بین میکروسکوپ‌های فلورسانس، کدام گزینه می‌باشد؟**

الف DFA ب IFA
ج PALM د FRET

**۴۰ گزینه غلط در مورد روش NMR کدامیک از موارد زیر می‌باشد؟**

الف پروتئین‌های کوچکتر از ۲۰ کیلودالتون راشناسایی می کند.
ب اطلاعاتی از کونفورماسیون مختلف یک پروتئین ارائه می کند.
ج نیازی به کریستالیزاسیون ندارد.
د در تعیین فاصله بین اتم‌ها نقش دارد.

**۴۱ از کدامیک از رنگ‌های زیر، برای رنگ‌آمیزی اختصاصی اندامک‌ها استفاده می‌شود؟**

الف flura ب Cy3
ج SNARF-1 د فلورسین

**۴۲ از کدامیک از رنگ‌های زیر، برای پایش PH سیتوزولی سلول‌های زنده استفاده می‌شود؟**

الف flura ب آبی کوماسی
ج قرمز تگزاس د SNARF-1

**۴۳ y-کربوکسیلاسیون گلوتامات را در ..... می‌توان مشاهده نمود.**

الف پروتئین های غشایی ب اکتین
ج پروترومبین د کلاژن

**۴۴ کدامیک از ساختارهای زیر به پیچ سنجاق سری معروف است؟**

الف مارپیچ α ب صفحات β
ج پیچه β د مارپیچ تصادفی

**۴۵ فراوانترین پروتئین موجود در پستانداران کدامیک از موارد زیر می‌باشد؟**

الف هموگلوبین ب اکتین
ج میکروتوبول د کلاژن