

بسمه تعالی

چکیده‌ای از کتب:

"پروتئومیک"

تالیف مصطفی رضایی طاویرانی، سید امیر مرعشی، زهرا قلنبر و مهرناز مصطفوی

"بیوفیزیک"

تالیف مصطفی رضایی طاویرانی و همکاران



مقدمه و مفاهیم اولیه پروتئومیکس

پروتئومیکس (Proteomics) روشی معقول برای ایجاد ارتباط بین اطلاعات موجود در توالی نوکلئوتیدی و خصوصیات عملکردی یک سلول می‌باشد.

از پروتئومیکس و تکنیکهای آن در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی، توصیف موتانتها، شناسایی و توصیف اثر عوامل غیر زنده بر موجود از طریق پروتئین‌های پاسخگو، مقاومت موجود به استرس و غیره در زمینه‌های مختلف از جمله پزشکی، کشاورزی، صنعتی و غیره بطور گسترده استفاده می‌شود.

اومیکس (Omics):

اومیکس پسوندی است که زمان زیادی از ابداع آن نمی‌گذرد. در زیست‌شناسی کلماتی که به پسوند -ومیکس ختم می‌شوند شاخه‌هایی از زیست‌شناسی هستند که به مطالعه «همه» محتوبات یک سیستم می‌پردازند. پسوند اوم (-omes) در یونانی به معنای «همه» می‌باشد و اومیکس از این پسوند مشتق شده است. برای مثال همه محتویات ژنتیکی یک سیستم «ژنوم» نامیده می‌شود و به مطالعه ژنوم «ژنومیکس» می‌گویند. پسوند های اوم و اومیکس هم اولین بار در همین کلمات به کار رفتند. پس از آن این پسوند در کلمه‌های «پروتئوم» و «پروتئومیکس» هم بکار رفت، و با فاصله کمی به سایر مطالعات زیست‌شناسی نیز راه یافت. با وجود آنکه لیست این کلمات همچنان روبه گسترش است، اما هنوز ژنومیکس و پروتئومیکس پرکاربردترین کلمات از این دست محسوب می‌شوند. اومیکس‌ها به طور معمول اطلاعات زیستی را در مقیاس بزرگ و سیستمیک بررسی می‌کنند. به شاخه‌ای از زیست‌شناسی که با چنین مطالعاتی سروکار دارد زیست‌شناسی سیستم‌ها (Systems Biology) گفته می‌شود. در زیست‌شناسی سیستم‌ها برهمکنش اجزای مختلف یک سیستم زنده (مانند پروتئین‌ها، مسیرهای متابولیسمی و سلولها) مورد مطالعه قرار می‌گیرد و امید است چنین مطالعاتی بتواند در نهایت مدل قابل فهمی از یک سیستم زنده ترسیم نماید. برخلاف زیست‌شناسی مولکولی، در زیست‌شناسی سیستم‌ها اجزاء مختلف سیستم را جداگانه مورد مطالعه قرار نمی‌دهند. مشهورترین «اوم» هایی که در زیست‌شناسی سیستم‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرند عبارتند از:

ژنوم (genome):

در زیست‌شناسی به کلیه اطلاعات وراثتی (شامل ژنها و مناطق غیر کدکننده) که بوسیله DNA (کروموزوم‌ها) رمز می‌شوند ژنوم گفته می‌شود. این کلمه در سال ۱۹۲۰ به وسیله Hans Winkler استاد دانشگاه هامبورگ ابداع شده است.

به مطالعه ژنوم موجودات، ژنومیکس گفته می‌شود. ابزارهای اصلی که در ژنومیکس مورد استفاده قرار می‌گیرند آنالیزهای ژنتیکی، توالی‌یابی DNA، بیوانفورماتیک، اندازه‌گیری میزان بیان ژنها و روشهای تعیین عملکرد ژنها هستند.

اصطلاح ژنومیکس نخستین بار در دهه ۱۹۸۰ ابداع شد و با آغاز پروژه‌های ژنوم چندین موجود زنده در دهه ۱۹۹۰ به طور گسترده‌ای مطرح شد.

پروتئوم (proteome):

به مجموعه تمامی پروتئین‌هایی که در یک موجود زنده خاص در شرایط مشخص (شامل شرایط درونی مانند نوع بافت و شرایط بیرونی مانند تیمارشدن به وسیله دارو است) بیان می‌شوند پروتئوم گفته می‌شود. مطالعه پروتئوم را پروتئومیکس می‌گویند. در یک موجود زنده ژنوم از یک ماهیت پایدار برخوردار است در حالی که پروتئوم از سلولی به سلول دیگر تغییر می‌کند و در پاسخ به محیط و برهمکنش‌های بیوشیمیایی مرتباً در حال تحول است. در حقیقت یک آنالیز پروتئوم مانند عکس گرفتن از یک پدیده پویا و متغیر است.

افراد مرتبط با پژوهش‌های پروتئومیکس معمولاً در یک یا چند بخش از این قسمت‌ها فعالیت می‌کنند:

(۱) جداسازی پروتئین‌ها: تمامی تکنولوژیهای پروتئومیکس به توانایی ما در خالص‌سازی و تفکیک اجزاء یک مخلوط پروتئینی وابسته است.

(۲) شناسایی پروتئین‌ها: معمولاً توالی یک پروتئین بهترین شناسه آن است. روش‌هایی مانند روش توالی‌یابی ادمن به طور سنتی برای این منظور استفاده می‌شده‌اند، اما این روش‌ها در کارهای پروتئومیکس نمی‌توانند کاربرد گسترده‌ای داشته باشند چرا که سرعت بسیار پایینی دارند. در حال حاضر روش‌های طیف‌سنجی جرمی برای این منظور استفاده می‌شوند. داده‌ای که از این روش‌ها بدست می‌آید معمولاً یک‌سری وزن مولکولی قطعات پپتیدی (اثر انگشت جرمی پپتید) و یا در دستگاههای پیشرفته‌تر چند توالی کوچک از بخش‌های مختلف پروتئین است. بعداً

این داده‌ها را می‌توان با داده‌های موجود در بانکهای اطلاعاتی توالی پروتئین‌ها مقایسه کرد و پروتئین مورد مطالعه را شناسایی نمود. امروزه از تراشه‌های پروتئینی هم ممکن است استفاده شود و پروتئین‌ها را برحسب ویژگیهای اتصال آنها (که می‌تواند منحصر به فرد باشد) شناسایی می‌کنند.

(۳) اندازه‌گیری میزان پروتئین: برای اندازه‌گیری پروتئین از رنگ‌آمیزی معمولی ژلها به همراه نرم‌افزارهای آنالیز تصویر می‌توان استفاده کرد. در رنگ‌آمیزی افتراقی، دو نمونه مختلف به وسیله دورنگ فلورسانت متفاوت برچسب گذاری می‌شوند و به طور همزمان روی ژل از همدیگر تفکیک می‌گردند. از روی رنگی که هر لکه روی ژل دارد می‌توان به میزان بیان پروتئین در هر یک از نمونه‌ها پی برد. روش‌های مختلفی نیز برای آنالیزهای غیروابسته به ژل طراحی شده‌اند که از میان آنها می‌توان به برچسب گذاریهای تمایلی اشاره نمود.

(۴) آنالیزهای محاسباتی توالی پروتئین‌ها: مهمترین هدف در این بخش شناسایی یک پروتئین مجهول از میان یک بانک اطلاعاتی بزرگ از پروتئین‌هاست، اما شناسایی دومین^۱، پیش‌بینی عملکرد پروتئین‌ها و شناسایی روابط تکاملی پروتئین‌ها هم در این بخش مدنظر است.

(۵) پروتئومیکس ساختاری: در این بخش تلاش می‌شود ساختار سه‌بعدی پروتئین‌های یک پروتئوم با سرعت قابل قبولی تعیین گردد. در حال حاضر از ابزارهایی نظیر کریستالوگرافی اشعه X و نیز NMR برای این منظور بهره برده می‌شود.

(۶) پروتئومیکس برهمکنش‌ها یا اینتراکتومیکس: در این بخش برهمکنش پروتئین‌ها مورد مطالعه قرار می‌گیرد. مهمترین ابزاری که برای این منظور استفاده گردیده تکنیک دو هیبریدی مخمر (Y2H) می‌باشد. از تراشه‌های پروتئین نیز برای شناسایی برهمکنش‌ها استفاده می‌شود.

(۷) شناسایی تغییرات پروتئین‌ها: تقریباً تمامی پروتئین‌ها کم و بیش با آنچه که از ترجمه خالص رونوشت ژنی آنها پیش‌بینی می‌شود تفاوت‌هایی دارند که به خاطر تغییرات شیمیایی پس از ترجمه حاصل شده است. روش‌های خاصی برای مطالعه این تغییرات ابداع شده‌اند که از میان آنها می‌توان به فسفو پروتئومیکس (مطالعه فسفریله شدن پروتئین‌ها) و گلیکو پروتئومیکس (مطالعه گلیکوزیله شدن پروتئین‌ها) اشاره نمود.

^۱: Domain

(۸) پروتئومیکس سلولی: هدف این بخش، که قدمت چندانی ندارد، شناسایی محل دقیق پروتئین‌ها و نوع برهمکنش‌های پروتئینی در رخداد‌های مختلف سلولی است. از جمله ابزارهایی که در این بخش مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به توموگرافی اشعه X و میکروسکوپ فلورسانس اشاره نمود.

سایر «اوم» های مشهور:

از میان سایر «اوم» های مشهور می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- لیپیدوم (Lipidome): مجموعه لیپیدها و متابولیت‌های غیر محلول در آب.
- گلیکوم (Glycome): به مجموعه تمامی کربوهیدرات‌های موجود در یک سیستم زنده اطلاق می‌شود. مطالعه گلیکوم از پیچیدگی بسیار زیادی برخوردار است، چرا که واحدهای ساختمانی پلی‌ساکاریدها بسیار متنوع‌تر از واحدهای ساختمانی پلی‌پتیدها و هر پلیمر زیستی دیگری می‌باشند.
- ترانس‌کریپتوم (transcriptome): به مجموعه رونوشت‌های ژنی (mRNA) موجود در یک سلول اطلاق می‌شود.
- متابولوم (Metabolome): به مجموعه الگوهای متابولیت‌های موجود در یک سیستم زنده متابولوم گفته می‌شود. این متابولیت‌ها محصول نهایی بیان ژنها و پروتئین‌ها محسوب می‌شوند. درحقیقت بخش مهمی از فعالیتهایی که در سلول‌ها و سایر سیستم‌های زیستی انجام می‌پذیرند به غلظت این مولکول‌های کوچک شیمیایی بستگی دارند. بدیهی است که متابولوم دائماً در حال تغییر است.
- متابونوم (Metabonome): این اصطلاح هم تقریباً معادل متابولوم است و بیشتر در مطالعات سم‌شناسی داروها کاربرد پیدا کرده است.

- اسپیلیسوم (Spliceome): به مجموعه تمامی mRNAهایی که از پیرایش چندگانه (alternative splicing) رونوشت‌های یک ژن یا ژنوم حاصل می‌شوند اطلاق می‌گردد.

- اسپلیایسوزوم (Spliceosome): به مجموعه تمامی RNA ها و پروتئین هایی که در فرایند پیرایش همکاری

می کنند اسپلیایسوزوم گفته می شود.

تاریخچه پروتئومیکس

شیمی پروتئین و ارتباط آن با پروتئومیکس

در شیمی پروتئین، همانگونه که از نامش پیداست، تلاش می‌شود تا ویژگی‌های شیمیایی پروتئین بررسی شود، بدین معنا که از روی یک فعالیت شیمیایی مشاهده شده (و یا از روی یک فنوتیپ) ژنها و پروتئینهای مسؤول بروز این ویژگی‌ها شناسایی گردند. با گسترش روشهای زیست‌شناسی مولکولی مانند کلون کردن ژنها، تکنیک‌های توالی‌یابی و آنالیز بیان ژنها، موفقیت‌های شیمی پروتئین (یافتن ارتباط بین ویژگی‌های بیوشیمیایی پروتئین‌های خالص و ژن‌های رمزکننده آنها) سرعت یافت. یکی از مهمترین اهداف شیمی پروتئین یافتن روشهایی بود که به وسیله آن‌ها بتوان مقادیر نمونه مورد نیاز برای مطالعه پروتئین‌ها و توالی‌یابی آنها را تا حد ممکن کاهش داد، چرا که در بیشتر موارد پروتئین‌ها را بر اساس نوع فعالیت از نمونه‌های زیستی تخلیص می‌کردند و مقادیر آنها بسیار کم بود. در بلندمدت، دانشمندان تلاش می‌کردند پروتئین‌های خالص دخیل در یک فرایند را در سیستم‌های *in vitro* با هم مخلوط کنند و ببینند که آیا وجود این اجزا می‌تواند سبب بدست آمدن فعالیتی شبیه به فعالیت مشاهده شده در سیستم زنده شود یا خیر.

با پیشرفت روشهای توالی‌یابی ژنها در مقیاس بالا، یک دیدگاه «معکوس» مطرح شد که تلاش می‌کرد با استفاده از توالی ژنها عملکرد (و فنوتیپ) حاصل از آن‌ها را پیش‌بینی نماید. برای مثال، با استفاده از مطالعه میزان بیان ژنها، دسته‌هایی از ژنها که بیان mRNA آنها به طور همزمان تغییر می‌کرد شناسایی شدند. در حقیقت، ایده مطالعه ژنهایی که به صورت مرتبط با هم بیان می‌شوند (به صورت یک آنالیز مقایسه‌ای بین حالت‌های مختلف سلولی) نخستین بار در مسأله مقایسه ژل‌های دوبعدی پروتئین مطرح شده و مورد توجه قرار گرفته است.

الکتروفورز دوبعدی

نخستین نیاز در آنالیز پروتئوم جداسازی و آشکارسازی پروتئین‌های موجود در مخلوط‌هایی پیچیده (تا چند صد هزار پروتئین) می‌باشد. با اینکه امروزه روش‌های جداسازی متعددی برای این منظور به کار گرفته شده است (مانند روش‌های تراشه پروتئین (ProteinChip) و مطالعه مستقیم مخلوط‌های پروتئینی به وسیله طیف‌سنجی جرمی و برجسب‌های تمایلی نشاندار شده با ایزوتوپ)، الکتروفورز دوبعدی (2DE) روی ژل پلی‌اکریل آمید کماکان به عنوان یکی از بهترین گزینه‌ها برای مطالعه مخلوط‌های پیچیده پروتئینی مطرح است. این امر به خاطر ویژگی استثنایی الکتروفورز دوبعدی در جداسازی همزمان چندین هزار پروتئین و به دنبال آن امکان آشکارسازی و

مقایسه کمی پروتئین‌های جداشده با حساسیت بالاست. در ضمن می‌توان با روش‌های موجود مانند طیف‌سنجی جرمی پروتئین‌های جداشده به وسیله ژل را شناسایی کرد.

نخستین بار **Smithies** و **Poulik** در سال ۱۹۵۶ جداسازی پروتئین‌های سرم را به وسیله یک روش دوبعدی گزارش کردند. آنها در بعد اول از الکتروفورز کاغذی و در بعد دوم از الکتروفورز نشاسته برای جداسازی استفاده نمودند. با پیشرفت‌هایی که در زمینه الکتروفورز دوبعدی صورت گرفت (نظیر استفاده از محیط‌های پلی‌اکریلامید و یا گرادیان غلظت پلی‌اکریلامید) الکتروفورز دوبعدی نیز تکامل یافت. استفاده از روش متمرکزسازی بر اساس نقطه ایزوالکتریک (**IEF**) این امکان را فراهم ساخت که جداسازی در بعد اول بر اساس ویژگی دیگری یعنی بار پروتئین‌ها انجام گیرد. بدین ترتیب با همراه کردن **IEF** (در بعد اول) و **SDS-PAGE** (در بعد دوم) پروتئین‌ها بر اساس دو ویژگی مستقل یعنی بار و اندازه از هم جدا می‌شدند. بعداً این روش با به کارگیری اوره و شوینده‌های غیر یونی مورد استفاده در **IEF**، برای انواع متنوعی از نمونه‌ها قابلیت کاربرد پیدا کرد. بدین ترتیب، تا سال ۱۹۷۵ میلادی با پیشرفتهایی که در زمینه الکتروفورز دوبعدی حاصل شده بود، محققین قادر بودند مخلوط‌های پروتئینی حاصل از لیز کردن سلول‌ها و یا بافت‌ها را با کیفیت مناسبی از همدیگر تفکیک کنند. براساس چنین پیشرفت‌هایی بود که در سال ۱۹۷۵ اوفارل (**O'Farrell**) روش الکتروفورز دوبعدی را که برای جداسازی پروتئین‌های /شریشیا کلای بهینه شده بود، معرفی نمود. در این روش برای **IEF** از ژل استوانه‌ای پلی‌اکریلامید با **T ۴٪** و **C ۵٪** (فصل روش‌ها را ببینید) استفاده شده بود که در آن **M ۸** اوره و **۲٪** نانیدت **P-40 (NP-40)** به کار رفته بود. سیستم **SDS-PAGE** هم سیستم غیرپیوسته لاملی (**Laemmli**) بود (که در آن ژل از دو بخش تشکیل شده است: ژل تجمعی^۱ و ژل تفکیکی^۲). در حقیقت پس از گزارش اوفارل و نیز کلوز (**Klose**) در سال ۱۹۷۵ بود که محققان امیدوار شدند بتوانند از روش الکتروفورز دوبعدی برای تفکیک کل پروتئین‌های یک موجود زنده استفاده کنند. برای آنالیز مقایسه‌ای پروتئوم‌ها، لازم است علاوه بر قدرت تفکیک بالا، الگوهای تکرارپذیری از پروتئین‌ها نیز بدست آید. تا همین اواخر برای انجام **IEF** از آمفولیت‌های حامل سنتزی^۳ (**SCA**) برای ایجاد گرادیان **pH** استفاده می‌شد. متأسفانه **SCA** ها در یک واکنش پیچیده شیمیایی تهیه می‌شدند و ترکیب اجزاء آمفولیتی در محصول واکنش الگوی تکرارپذیری نداشت. بنابراین ژل‌های **IEF** نیز تکرارپذیری کمی داشتند. در ضمن اجزاء آمفولیتی به همراه آب به خاطر پدیده الکترواندواسمز^۴ در طول زمان به سمت کاتد حرکت می‌کردند. این مشکلات و مشکلات دیگری که با روش **IEF** آمفولیتی همراه بود، سبب شد تا تکنیک ژل‌های گرادیان **pH** تثبیت

^۱: Stacking Gel

^۲: Resolving Gel

^۳: Synthetic Carrier Ampholytes

^۴: Electroendosmosis

شده^۱ (IPG) مورد استفاده قرار گیرند. امروزه استفاده از IEF آمفولیتی رفته‌رفته به دست فراموشی سپرده می‌شود و استفاده از IPG IEF هر روز محبوبیت بیشتری پیدا می‌کند.

از پروتئین‌های خالص تا توالی‌ژن‌ها

بیشتر پیشرفتهای شیمی تجزیه پروتئین در دهه ۱۹۸۰ و اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی به این موضوع مربوط می‌شدند که چگونه می‌توان حساسیت تکنیک‌ها را برای شناسایی پروتئین‌هایی که به وسیله ژل از هم تفکیک شده‌اند افزایش داد. در بیشتر موارد، توالی‌یابی پروتئین بود که می‌توانست ارتباط بین عملکرد یک پروتئین و یا ژن مربوطه را مشخص کند.

در توالی‌یابی به روش ادمن (Edman)، می‌توان پروتئین (یا قطعات پپتیدی حاصل از هضم آنزیمی پروتئین) را از انتهای آمین آنها، با جداکردن یکی‌یکی اسیدهای آمینه و شناسایی آنها به وسیله یک آشکارساز، توالی‌یابی نمود. تا مدت‌ها توالی‌یابی ادمن به عنوان تنها روش مفید برای تعیین توالی پروتئین‌هایی محسوب می‌شد که با استفاده از ژل از هم تفکیک شده بودند. در این زمان پایگاههای داده پروتئین هنوز بسیار کوچک بودند و توالی‌های جدید به احتمال زیاد در این بانک‌های اطلاعاتی ثبت نشده بودند. در چنین شرایطی برای شناسایی کامل توالی ژن و پروتئین لازم بود آغازگرهایی طراحی شوند که تمامی ترکیبات مختلف که می‌توانستند از ترجمه اسیدهای آمینه به کدون‌ها حاصل گردند را شامل شوند؛ در مرحله بعد با استفاده از PCR، این ژنها را کلون می‌کردند.

با اینکه توالی‌یابی به روش ادمن روشی شناخته‌شده، قابل اعتماد و اتوماتیک محسوب می‌شد اما به طور ذاتی مشکلاتی داشت که از آن جمله می‌توان به حساسیت پایین آن و سرعت بسیار کم آن اشاره نمود. از طرف دیگر، با توجه به پیشرفت تکنیک‌های توالی‌یابی ژنها، رفته‌رفته این امکان به وجود آمد که در مؤسسات تحقیقاتی بزرگ برنامه‌هایی برای توالی‌یابی هر چه بیشتر ژن‌ها تدوین شود. بدین ترتیب با گذشت زمان احتمال اینکه ژن مربوط به پروتئین مورد مطالعه در یکی از بانک‌های اطلاعاتی ثبت شده باشد افزایش می‌یافت. در این زمان رفته‌رفته این ایده شکل می‌گرفت که برای جستجو و یافتن توالی یک پروتئین حتماً لازم نیست از صفر شروع کرده و پروتئین را توالی‌یابی کرد، چرا که اطلاعات جانبی ممکن است بتواند ما را به شناخت پروتئین مورد مطالعه راهنمایی کند. ایده شناسایی پروتئین‌ها به وسیله طیف‌سنجی جرمی از همین جا شکل گرفت.

در اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی، توالی‌یابی DNA در مقیاس بالا^۲ گسترش چشمگیری یافت، و این موفقیت باعث شد این امکان به وجود بیاید که ESTهای (Expressed Sequence Tags) زیادی توالی‌یابی شوند.

^۱: Immobilized pH Gradient

^۲: Highthroughput

ESTها در حقیقت از توالی‌یابی سریع **mRNA** ها بدست می‌آیند که در این کار تنها تلاش می‌شود تا جایی که ممکن است **mRNA**های بیشتری توالی‌یابی شوند و دقت در توالی‌یابی و یا حتی کامل‌شدن توالی‌یابی هر **mRNA** خیلی مد نظر نیست. ویژگی مهم **EST** ها این است که اولاً به سرعت می‌توان مقادیر زیادی از آنها را تهیه کرد و ثانیاً آنکه هر **EST** نماینده یک ژن بیان‌شده است و در نتیجه کار شناسایی ژنها از میان انبوهی از توالی‌های ژنومی نامشخص را تا حد زیادی راحت می‌کند.

با مشخص‌شدن توالی‌های ژنی متعدد (نظیر **EST** ها و غیره) این امکان به وجود آمد تا با مقایسه (بخشی از) توالی پروتئین که از روشهای تجربی حاصل می‌شد با توالی ژنی بانکهای اطلاعاتی، ژنهای مربوطه شناسایی شوند. در این سالها این امیدواری وجود داشت که نهایتاً بانکهای اطلاعاتی **EST**، توالی‌هایی مربوط به «تمام» ژنها را ثبت کنند، اما این امر به سادگی محقق نشد. یکی از دلایل اصلی این موضوع اختلاف مقدار **mRNA**های موجود در سلول بود که باعث می‌شد از بعضی انواع آنها بارها و بارها **EST** تهیه شود در حالیکه برخی انواع دیگر به خاطر کم بودن غلظت آنها احتمال بسیار ناچیزی برای انتخاب‌شدن و تعیین توالی داشته باشند. در سال ۱۹۹۶، سرانجام کتابخانه توالی نرمال‌شده برای مخمر و سپس در اوایل دهه ۲۰۰۰ میلادی برای انسان تهیه شد که در این کتابخانه‌ها تلاش شده بود از هر ژن یک و تنها یک نسخه وجود داشته باشد.

با تهیه چنین کتابخانه‌هایی اکنون تلاش برای شناسایی سریع ژنها به این موضوع مربوط می‌شود که بتوانیم اطلاعات (وابسته به) توالی را با چه سرعتی در مورد پپتیدها و پروتئینها بدست آوریم، و این اطلاعات را چگونه به کتابخانه ژنی ارتباط دهیم. روش «طیف‌سنجی جرمی»^۱ (**MS**) و الگوریتم‌های جستجوی بانکهای اطلاعاتی به سرعت خلأ موجود را پر کردند.

طیف‌سنجی جرمی و کاربرد آن در شناسایی پپتیدها و پروتئین‌ها

با اینکه طیف‌سنجی جرمی تکنیک جدیدی محسوب نمی‌شود، اما به مدت چند دهه تنها کاربرد شناخته‌شده آن برای شیمیدانها تعیین ساختار و آنالیز مولکولهای کوچک بود. ویژگی اصلی طیف‌سنجی جرمی آن است که جرم ذرات باردار را با دقت‌های بسیار زیاد می‌تواند تعیین کند.

برای اندازه‌گیری جرم ذرات، یا به بیان بهتر، نسبت جرم به بار (**m/z**) ذرات (یونها) توسط طیف‌سنج جرمی، ماده مورد بررسی ابتدا باید یونیزه شده و وارد یک سیستم در شرایط خلأ بالا گردد. نشان داده شده است که یونیزه کردن پپتیدها و پروتئین‌ها، مانند بسیاری از مولکول‌های بزرگ دیگر، به طوریکه باعث «تخریب» آنها نشود، کار

^۱ : Mass Spectrometry

مشکلی است. دهه ۱۹۸۰ میلادی، ابتدا روش یونیزاسیون و آزادسازی لیزری^۱ به وجود آمد، و سپس به دنبال آن دو روش یونیزه کردن به کمک الکترواسپری^۲ (ESI) و یونیزاسیون و آزادسازی لیزری به کمک بستر^۳ (MALDI) توسعه یافتند. موفقیت این روش‌های یونیزاسیون در شیمی تجزیه پروتئین رفته‌رفته سبب شد طیف‌سنج‌های جرمی با منبع‌های یون‌ساز ESI یا MALDI به صورت تجاری تولید شوند و به طور گسترده توسط دانشمندان شیمی پروتئین مورد استفاده قرار بگیرند. در هر طیف‌سنج جرمی سه قسمت مجزای منبع یون‌ساز، تفکیک‌کننده جرمی و آشکارساز وجود دارد. منبع یون‌ساز MALDI به طور معمول با تفکیک‌کننده جرمی زمان پرواز^۴ (TOF) همراه می‌شود در حالی که ESI در بیشتر موارد با طیف‌سنج‌های MS/MS دام یونی و یا چهارقطبی سه‌گانه مورد استفاده قرار می‌گیرد. داده‌های حاصل از طیف‌سنجی جرمی را در مرحله بعد با پروتئین‌های موجود در بانک اطلاعاتی مقایسه می‌کنند تا ببینند چه پپتیدی می‌تواند چنین جرمی داشته باشد.

اگرچه طیف‌سنج‌های جرمی MALDI-TOF می‌توانند با دقت بسیار بالایی جرم مولکولی پپتیدها و پروتئین‌ها را تعیین کنند، اما چنین داده‌ای به تنهایی برای شناسایی منحصر به فرد یک پروتئین یوکاریوتی کافی نیست، اما نشان داده شده است هنگامی که از جرم مولکولی چند پپتید حاصل از برش یک پروتئین (از جایگاههای مشخص) به طور همزمان استفاده شود، می‌توان پروتئین را به طور منحصر به فرد شناسایی کرد.

در سال ۱۹۹۳ میلادی، پنج گروه به طور مستقل نتایج کارهای خود را در مورد به کاربردن این دیدگاه در الگوریتم‌های جستجوی پایگاههای داده ارائه کردند. با استفاده از این الگوریتم‌ها به همراه آنالیز پپتیدها به کمک طیف‌سنجی جرمی روش جدیدی برای شناسایی پروتئین‌ها ابداع شد که به آن «انگشت‌نگاری جرمی پپتیدها»^۵ گفته می‌شود (شکل ۱-۲). در این روش، پس از طیف‌گرفتن از مجموعه‌ای از پپتیدها (که از هضم آنزیمی یک پروتئین حاصل شده اند) یک طیف MS گرفته می‌شود و لیستی از جرم‌های موجود در بانک اطلاعاتی تهیه می‌گردد. سپس این جرم‌ها با جرم‌های پیش‌بینی شده حاصل از هضم آنزیمی پروتئین‌های موجود در بانک اطلاعاتی مقایسه می‌شود و بدین ترتیب پروتئین مورد مطالعه شناسایی می‌گردد. موفقیت چنین روش‌هایی به ویژگی برشی آنزیم مورد استفاده (که البته در بیش‌تر موارد تریپسین می‌باشد) کاملاً وابسته است. همچنین هرچه دقت طیف‌سنج جرمی و تعداد پپتیدهایی که جرم آنها به طور موفقیت‌آمیزی با جرم پپتیدهای بانک اطلاعاتی تطابق پیدا کند بیشتر باشد، این روش موفق‌تر عمل می‌کند. امروزه از MALDI-TOF به خاطر حساسیت بالا و سادگی کار دستگاهی به طور گسترده‌ای در شناسایی پروتئین‌های جدا شده توسط الکتروفورز دوبعدی استفاده می‌شود.

^۱ : Laser Desorption Ionization

^۲ : Electrospray Ionization

^۳ : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization

^۴ : Time of Flight

^۵ : Peptide Mass Fingerprinting

همان‌طور که گفته شد، منبع یون‌ساز **ESI** به طور معمول با تفکیک‌کننده‌های چهارقطبی سه‌گانه و یا دام یونی همراه می‌شود. امروزه نوع سومی از تفکیک‌کننده‌ها به نام هیبرید چهار قطبی **TOF** (و یا به طور خلاصه **Q-TOF**) عرضه شده است که به طور گسترده ای همراه با **ESI** مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تمام این طیف‌سنج‌ها، علاوه بر جرم پیتید، می‌توان یک پیتید دلخواه را بر اساس نسبت **m/z** آن از میان مجموعه‌ای از پیتیدها انتخاب و آن را در فاز گازی قطعه‌قطعه نمود و یک طیف **MS/MS** از آن تهیه کرد. از آنجا که قطعه‌قطعه‌شدن یونهای پیتیدی به توالی وابسته است، از تفسیر طیف **MS/MS** یک پیتید می‌توان به توالی اسیدهای آمینه آن پی برد.

با گسترش الگوریتم‌هایی که با استفاده از طیف **MS/MS** بانکهای اطلاعاتی توالی پروتئین‌ها را جستجو می‌کردند، شناسایی پروتئین‌ها با استفاده از طیف‌سنجی جرمی **MS/MS** بسیار آسانتر شده است. از آنجا که توالی یک پیتید و یا به طور هم‌ارز طیف **MS/MS** آن می‌تواند پروتئین را به طور دقیق مشخص کند، روش‌های شناسایی پروتئین که بر پایه **MS/MS** هستند نسبت به روش‌های انگشت‌نگاری جرمی ویژگی بیشتری دارند. همچنین روش‌های جستجو بر پایه **MS/MS** می‌توانند به خوبی از پایگاه‌های داده¹ (ترجمه شده) **EST** استفاده کنند. از دیگر دلایل محبوبیت روش **ESI-MS/MS** آن است که به سادگی می‌توان آن را با ابزارهای مورد استفاده برای تفکیک پیتیدها مانند کروماتوگرافی همراه کرد، چرا که این روش کاملاً با حلالهایی که برای محلول‌سازی پیتیدها مورد استفاده قرار می‌گیرد سازگاری دارد.

پس از ابداع **ESI**، تکنیک **ESI** همراه با نانواسپری توسعه یافت که در آن مخلوط پیتیدهای تفکیک‌نشده با سرعت‌های شارش بسیار پایین، به درون طیف‌سنج جرمی پاشیده می‌شدند و با حساسیت بالایی مورد شناسایی قرار می‌گرفتند. با توجه به مقدار مصرف بسیار کم نمونه در هر بار شارش این امکان به وجود می‌آید که برای چندین یون پیتیدی مختلف بتوان طیف قطعات یونی حاصل از تخریب آنها را تهیه کرد. در ابتدا کاربر تصمیم می‌گرفت که کدام پیتیدها باید بیشتر قطعه‌قطعه شوند، اما سپس نرم‌افزارهای کنترل خاصی طراحی شدند که می‌توانستند به صورت اتوماتیک یونها را انتخاب کنند به طوری که بدون دخالت کاربر مفیدترین طیف‌های **MS/MS** بدست آید و فرایند تا حد زیادی اتوماتیک شود. این روش بیشتر برای استفاده در آنالیزهای **LC-MS/MS** مورد استفاده قرار گرفت که در آن مخلوطی از پروتئین‌ها به وسیله یک سیستم موئین¹ کروماتوگرافی فاز مایع با کارایی بالا (**HPLC**) به طیف‌سنج جرمی هدایت می‌شود.

¹ : Capillary

تولد «پروتئوم»:

مدتها پیش از آنکه آنالیز افتراقی بیان mRNA ممکن شود، در علوم پروتئین الگوهای تکرارپذیر به وسیله الکتروفورز دوبعدی تهیه می‌شد که با استفاده از آن محققان می‌توانستند تعداد زیادی از پروتئین‌ها را به طور کمی بررسی و مقایسه کنند. براساس موفقیت این الگوهای 2DE¹، در دهه ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ میلادی این ایده شکل گرفت که بانکهای اطلاعاتی بیان پروتئین بر اساس این الگوها ایجاد شود تا با استفاده از استراتژی‌های شناسایی معکوس، پروتئین‌هایی که الگوی بیان آنها تغییر پیدا کرده باشد را بدون نیاز به آنالیز مجدد و صرفاً با استفاده از محل پروتئین روی ژل شناسایی کنند (مشابه این کار را امروزه به‌طور معمول در مطالعه بیان ژنها به کمک ریزآرایه‌های DNA انجام می‌دهند). در حقیقت بسیاری از روشهایی که امروزه برای مطالعه کمی الگوهای بیان ژنها مورد استفاده قرار می‌گیرند (مانند روشهای آمار چندمتغیره و یا الگوریتم‌های دسته‌بندی^۱) در این زمان برای مطالعه الگوهای پروتئین-ها روی ژلهای الکتروفورز دوبعدی ابداع شده بودند. با وجود این، در آن زمان چنین ایده‌هایی در مورد مطالعه پروتئین‌ها توسط ژل‌های دوبعدی خیلی عملی نشد، چرا که روش 2DE ذاتاً یک روش توصیفی است و نمی‌تواند ماهیت پروتئین را پس از جداسازی معرفی کند و همچنین به این خاطر که دستیابی به الگوهای تکرارپذیر توسط الکتروفورز دوبعدی در آن زمان تقریباً غیرممکن بود.

با پیشرفت‌های سریعی که در اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی در روش‌های آنالیز به وسیله طیف‌سنجی جرمی، گسترش بانکهای اطلاعاتی پروتئین و الگوریتم‌های جستجوی آنها به وجود آمد، این امکان برای متخصصان شیمی پروتئین حاصل شد تا (اکثر) پروتئین‌های جدا شده به وسیله الکتروفورز دوبعدی را شناسایی و میزان بیان آنها را بررسی نمایند. بدین ترتیب دانشمندان امیدوار شدند که بتوانند مطالعات پروتئینها را در مقیاس بزرگ انجام دهند. در همین راستا، در سال ۱۹۹۴، در نخستین کنگره الکتروفورز دوبعدی در سیه‌نا (در ایتالیا) واژه «پروتئوم» برای نخستین بار مورد استفاده قرار گرفت. این واژه در حقیقت با تقلید از واژه ژنوم ابداع شده بود. به فرایند مطالعه پروتئوم‌ها هم «پروتئومیکس» گفتند کما اینکه به دانش مطالعه ژنوم ژنومیکس اطلاق می‌شود. توجه کنید که کارهای پروتئومیکس حداقل دو دهه قبل از اینکه به طور اختصاصی یک نام به آنها اختصاص داده شود، در حال انجام بوده‌اند. یک نام مستقل تنها نشان دهنده اهمیت روزافزون این شاخه و البته جلب توجه سرمایه‌گذاران بوده است!

پروتئومیکس در مقایسه با همتای اسیدنوکلئیکی‌اش یعنی ژنومیکس، پیچیدگیهای بسیار بیشتری دارد. تکنولوژی مورد استفاده در آن نیز هنوز به بلوغ کافی نرسیده است. در ضمن با توجه به اینکه هیچ روشی برای

¹ : Clustering

تکثیر و ازدیاد سریع پروتئین‌ها (نظیر آنچه برای مولکول‌های DNA توسط PCR انجام می‌شود) وجود ندارد و تنها می‌توان پروتئین‌هایی را مورد آنالیز قرار داد که از منابع طبیعی (سلول‌های زنده) جداسازی شده‌اند. بنابراین منابع کارهای پرتئومیکس محدودتر هستند. تنوع گونه‌های پروتئینی نیز بسیار زیاد است. گذشته از آن، پیرایش رونوشت‌های ژنی به طرق مختلف می‌تواند گونه‌های پروتئینی بسیار متنوع‌تری را به وجود آورد، و پروتئین‌های حاصله هم می‌توانند دچار تغییرات شیمیایی پس از ترجمه^۱ شده و تنوع گونه‌های پروتئینی را باز هم افزایش دهند. علاوه بر این، کم‌مقدارترین پروتئین‌ها در مخمر حدود 10^5 الی 10^6 برابر کمتر از فراوانترین آنها و در سرم خون انسان نیز تا حدود 10^{10} برابر کمتر از فراوانترین پروتئین‌ها می‌باشند. این امر شناسایی پروتئین‌های کم‌مقدار را به طور جدی با مشکل مواجه می‌کند، چرا که فراوانی زیاد پروتئین‌های پرمقدار باعث می‌شود پروتئین‌های کم‌مقدار قابل شناسایی نباشند.

پروتئومیکسس بر پایه الکتروفورز دوبعدی با مشکلات زیادی مواجه است. این مشکلات 2DE را پیچیده می‌کند و هزینه‌ها را افزایش می‌دهد، و اساساً دچار محدودیت‌هایی است؛ کاربرد روزافزون MALDI-MS و ESI-MS/MS در شناسایی پروتئین‌هایی که بوسیله الکتروفورز دوبعدی جدا شده‌اند نشان می‌دهد در بسیاری از موارد (بسیار بیشتر از آنچه در گذشته تصور می‌شد) پروتئین‌ها به طور همزمان روی ژل حرکت می‌کنند و یک لکه روی ژل در بسیاری از موارد در حقیقت مجموعه‌ای از حداقل دو پروتئین است. از آنجا که آنالیز شدت لکه‌ها به منظور شناسایی تغییرات در بیان پروتئین‌ها بر این فرض استوار است که در هر لکه فقط یک نوع پروتئین وجود دارد، صحت چنین آنالیزهایی نیز زیر سؤال می‌رود. همچنین، هنگامی که از پروتئین‌های شیره حاصل از لیز کردن سلول‌ها (بدون هیچ گونه جداسازی اضافی) ژل دوبعدی تهیه شود، با استفاده از روش‌های معمولی رنگ‌آمیزی، اغلب پروتئین‌های سلولی اصلاً روی ژل دیده نمی‌شوند. بنابراین، علی‌رغم بلوغ این تکنیک و علمکرد منحصر به فرد آن در جداسازی تهیه الگوهای افتراقی برای پروتئین‌های تغییر یافته، و علی‌رغم بهبود مداوم جداسازی با 2DE و تکنیک‌های شناسایی لکه‌ها، استفاده از روش‌هایی که برای شناسایی پروتئین‌های پروتئوم به الکتروفورز دوبعدی متکی نباشند (برای مطالعات مقایسه بیان پروتئین‌ها در مقیاس بزرگ) بیشتر مورد توجه قرار گرفت.

بدست آوردن الگوهای کمی از پروتئوم به وسیله روش‌های غیر وابسته به ژل

از لحاظ تاریخی، نخستین بار هانت (Hunt) و همکارانش یک روش مستقل از ژل را برای آنالیز یک نمونه زیستی حاوی پروتئین به کار بردند. لنفوسیت‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن دائماً پروتئین‌ها را هضم می‌کنند و برخی از

^۱ : Post-Translational Modifications

این پپتیدها را به وسیله پروتئین‌های **MHC** عرضه می‌کنند. در این تحقیق، از روش رسوب‌دهی ایمونولوژیکی^۱ استفاده شد تا کمپلکس‌های پپتید-**MHC** را جداسازی کنند. بدین ترتیب پپتیدهای آنتی‌ژنی جدا شدند و سپس این مخلوط‌های پپتیدی به وسیله روش **LC-MS/MS** آنالیز شدند. همچنین از پاسخ سلول‌های **T** به عنوان آزمون زیستی استفاده کردند تا وجود پپتیدهای آنتی‌ژنی را در هر جزء کروماتوگرافی بررسی کنند. با استفاده از این داده‌ها و داده‌های حاصل از طیف‌سنجی جرمی متوالی پپتیدهای آنتی‌ژنی شناسایی شدند. نتایج این تحقیق، **LC-MS/MS** را به عنوان ابزاری قدرتمند برای شناسایی مخلوط پپتیدها (ی حاصل از پروتئولیز مخلوط پروتئین‌ها) و به عنوان جایگزینی برای روش‌های وابسته به ژل معرفی کرد.

امروزه تلفیق **LC-MS/MS** و روش‌های جستجوی توالی در پایگاه‌های داده برای آنالیز مخلوط‌های پپتیدی حاصل از پروتئولیز چندین پروتئین به صورت یک روش متداول در آمده است. غالباً به این روش پروتئومیکسس «مسلسل»^۲ گفته می‌شود. در حقیقت این نام از اصطلاح توالی‌یابی مسلسل اقتباس شده است، که در آن قطعات **DNA** ژنومی نسبتاً بزرگ بدون توجه به توالی آنها و بدون انجام هیچ گونه انتخابی، تصادفاً برداشته شده و توالی‌یابی می‌شوند. (مانند اینکه به جای هدف‌گیری دقیق، با استفاده از مسلسل و بدون هدف‌گیری چندین گلوله شلیک شود). در هنگام توالی‌یابی ژنوم انسان، یکی از مراحل اصلی کندکننده سرعت، مرحله انتخاب قطعه **DNA** مورد نظر برای توالی‌یابی بوده است. در توالی‌یابی مسلسل این مرحله حذف شده و در عوض قطعات بیشتری توالی‌یابی می‌گردند، تا این اطمینان حاصل شود که توالی هر قسمت از **DNA** ژنومی حداقل چند بار مشخص شده است. بدین ترتیب، سرعت انجام پروژه ژنوم به شدت افزایش می‌یابد. در پروتئومیکسس مسلسل نیز به جای تلاش برای جداسازی پروتئین‌ها (که یک مرحله مشکل و بعضاً ناموفق است)، به صورت غیر هدفمند مخلوطی از تمام پروتئین‌ها (که می‌توانند چندصد و یا حتی چندهزار پروتئین باشند) هضم آنزیمی شده و به قطعات پپتیدی تجزیه می‌شوند. در مرحله بعد تلاش می‌شود تا با روشی چون **LC-MS/MS** تا جایی که ممکن است توالی بیشتر این پپتیدها تعیین شود. نمونه‌های بسیار متنوعی از پروتئین‌های کمپلکس ریبوزومی مخمر گرفته، تا شیرۀ سلولی کامل مخمر با این روش آنالیز شده‌اند. در این مطالعات مشخص شده که پروتئومیکسس مسلسل با مشکلات مهمی مواجه است. برای مثال آشکارسازی و آنالیز طیف‌های جرمی حاصل از تجزیه القاشده به وسیله برخورد^۳ (**CID**) برای تمامی پپتیدهای موجود در یک نمونه مشکل است؛ از آزمایش‌های وابسته به داده (مانند انتخاب یک پپتید برای تفکیک بیشتر) به طور ذاتی داده‌های کیفی (و نه کمی) به دست می‌آید؛ از طرفی، در یک آزمایش معمولی از این

¹ : Immunoprecipitation

² : Shotgun

³ : Collision-Induced Dissociation

نوع چند هزار طیف بدست می‌آید، که تفسیر و پردازش این داده‌ها در یک زمان معقول کار مشکلی می‌باشد (این البته تنها یکی از مشکلات انفورماتیکی در سر راه پروتئومیکس مسلسل است). به طور متوسط با هضم هر پروتئین به کمک تریپسین در حدود ۳۰ تا ۵۰ پپتید مختلف حاصل می‌شود. بنابراین از هضم پروتئوم یک سلول معمولی انسانی مخلوطی از چند صد هزار پپتید حاصل می‌گردد. حتی بهترین ابزارهای LC-MS/MS هم قادر نیستند در زمان قابل قبولی چنین طیف پیچیده‌ای را آنالیز کنند. بنابراین برای آنالیز پروتئوم بیشتر نمونه‌های زیستی باید به نوعی پیچیدگی نمونه را کاهش داد (نمونه را به چند جزء تقسیم کرد). برای انجام این کار دو روش مختلف وجود دارد. در روش اول به طور انتخابی برخی از پپتیدهای نمونه انتخاب و غنی‌سازی می‌شوند. این کار بیشتر با انتخاب پپتیدهایی انجام می‌شود که یک ویژگی مشخصه دارند، مانند وجود گروه‌های سولفیدریل فعال (سیستئین آزاد) و یا اسیدهای آمینه‌ای که در فرآیند تغییرات پس از ترجمه فسفات‌دار شده‌اند یا به آنها کربوهیدرات اضافه شده است. در این روش بهترین حالت آن است که (حداقل) یک پپتید مشخصه از هر پروتئین انتخاب شده باشد. با این روش پیچیدگی نمونه تا حد زیادی کاهش می‌یابد هر چند ممکن است که برخی از پروتئین‌های مورد علاقه محقق از دست بروند. در روش دوم تلاش می‌شود تا همه اجزاء پروتئوم، در یک فرایند بالادستی پیش از وارد شدن به طیف‌سنج به چند جزء مختلف تفکیک و بدین ترتیب این قابلیت ایجاد شود که تمام پپتیدهای نمونه به وسیله طیف‌سنجی جرمی از همدیگر تفکیک گردند. برای مثال، برای تفکیک می‌توان از روشی چون الکتروفورز شارش آزاد (Free Flow Electrophoresis؛ شکل ۲-۳) بهره برد. همچنین، استفاده تلفیقی از دو یا سه روش مستقل جداسازی پپتیدها مانند تبادل کاتیون^۱ و کروماتوگرافی موئین فاز معکوس^۲ می‌تواند مؤثر باشد. گرچه هر دو روش فوق (یعنی جداسازی انتخابی و یا تفکیک به چند جزء) نشان داده‌اند که پروتئومیکس مسلسل می‌تواند روشی مؤثر باشد، اما تا کنون پروتئوم کامل هیچ موجود زنده‌ای به وسیله چنین روش‌هایی رمزگشایی نشده است.

در مطالعات مستقیم شیمی پروتئین (یعنی مطالعات در مسیر عملکرد به توالی)، در بیشتر موارد هدف نهایی مطالعه تعیین توالی پروتئین مورد نظر است، چرا که پیش از تعیین توالی، عملکرد و فعالیت پروتئین به طور دقیق مورد بررسی قرار می‌گیرد. اما در مطالعات معکوس (یعنی در مسیر توالی به عملکرد پروتئین)، مشخص شدن توالی لازم است اما کافی نیست. در بیشتر مطالعات پروتئومیکس میزان بیان پروتئین‌ها به صورت کمی اندازه‌گیری می‌شود، چرا که بررسی میزان بیان معمولاً به طور مستقیم به شناخت عملکرد پروتئین کمک می‌کند.

^۱ : Cation Exchange

^۲ : Capillary Reverse-Phase Chromatography

در گذشته، همانطور که ذکر شد، برای مطالعه میزان بیان، بیشتر از **2DE** استفاده می‌شد. در حال حاضر به علت کاربرد و مقبولیتی که طیف‌سنجی جرمی یافته است، بسیاری از محققان علاقه‌مند هستند از طیف‌سنجی جرمی در مطالعات کمی نیز استفاده کنند. متأسفانه، در طیف‌سنجی جرمی شدت سیگنال هر پپتیدی بسته به مقدار، توالی، نوع بستری که پروتئین در آن قرار دارد و عوامل متعدد دیگر (که خیلی از آنها ناشناخته‌اند) تغییر می‌کند. بدین ترتیب شدت سیگنال تنها تابعی از مقدار پپتید نیست، و به بیان دیگر طیف‌سنجی جرمی به طور ذاتی یک روش کیفی است و نه کمی. با وجود این، برای دو پپتید که ساختار شیمیایی آنها یکسان و تفاوت جرم آنها از تفاوت جرم ایزوتوپهای عناصر تشکیل‌دهنده آنها حاصل شده باشد، می‌توان گفت که در طیف‌سنجی جرمی مقادیر مساوی از این دو پپتید شدت سیگنال یکسان خواهند داشت.

یکی از نخستین تکنیک‌هایی که بر این اساس شکل گرفته است، برجسب‌های تمایلی نشاندار شده با ایزوتوپ¹ (**ICAT**) به همراه **LC-MS/MS** و جستجو در بانک اطلاعاتی می‌باشد. در این روش از واکنش‌گری آلکیل‌کننده مانند یدوآستیک اسید استفاده می‌شود که به صورت کووالان به ریشه‌های سیستمین متصل می‌گردد. در این مولکول یک بخش بیوتینی برای استفاده در کروماتوگرافی تمایلی هم وجود دارد، اما مهم‌ترین بخش مولکول بخشی است که تفاوت جرم را ایجاد می‌کند و در آن هشت هیدروژن غیر قابل تبادل وجود دارد (**d0**)، همچنین می‌توان از ابتدا واکنشگر را با هشت اتم دوتریوم (**d8**) تهیه کرد. از آنجا که این دوتریوم‌ها به اتم کربن متصل هستند با قرار گرفتن در محلول آبی معمولی نیز هیدروژن نمی‌تواند جایگزین آنها شود و ترکیب، کاملاً پایدار است.

برای انجام یک مقایسه کمی بین دو نمونه پروتئینی، پپتیدها را در یکی از این دو نمونه با **d0-ICAT** و در دیگری با **d8-ICAT** ترکیب می‌کنند. سپس این دو نمونه را با هم مخلوط و به وسیله کروماتوگرافی تمایلی اویدین به کمک بخش بیوتینی موجود در واکنش‌گر **ICAT** غنی‌سازی می‌کنند. در مرحله بعد با **LC-MS/MS** آنالیز انجام می‌شود. بدین ترتیب، پپتیدهای معادل در دو نمونه اکنون اختلاف جرمی مساوی با ۸ واحد خواهند داشت و شناسایی آنها در میان سایر پیک‌های طیف نسبتاً ساده است. در عین حال، نسبت شدت این پیک در دو نمونه با نسبت فراوانی پپتیدها در دو نمونه برابر خواهد بود.

روش‌ها متعدد دیگری برای ایجاد تفاوت‌های ایزوتوپی ابداع شده‌اند که از آن میان می‌توان به تجزیه پپتیدهای دو نمونه مختلف در آب حاوی ¹⁶O یا ¹⁸O اشاره کرد. پیش از این روش‌ها، تلاش شده بود از روش برجسب-گذاری متابولیکی استفاده شود (یعنی فقط ایزوتوپ مشخصی از یک عنصر خاص را در محیط کشت سلول‌ها قرار

¹ : Isotope-Coded Affinity Tags

می‌دادند. بدیهی است که این روش فقط در مورد سلول های کشت داده شده می تواند کاربرد داشته باشد، در حالی که روش هایی مانند برچسب گذاری ایزوتوپی و تجزیه پروتئولیتیک را می توان برای هر نمونه زیستی به کار برد.

کاربردهای پروتئومیکس

در این بخش به طور مختصر کاربردهای پروتئومیکس در مسائل واقعی مورد بررسی قرار می‌گیرد. این کاربردها بیشتر در زمینه پزشکی و کشاورزی، و به ویژه در کشف داروهای جدید هستند. در حال حاضر بیشتر بودجه‌هایی که صرف تحقیقات در زمینه پروتئومیکس می‌شوند توسط شرکت‌های دارویی تامین می‌گردند، زیرا این شرکت‌ها انتظار دارند که پروتئومیکس راه‌های میان‌بری را برای کشف و طراحی داروهای جدید و درعین حال روش‌های دقیق‌تری را برای تشخیص بیماری‌ها معرفی کند. درحقیقت، روش‌های پروتئومیکس هنگامی که با سایر روش‌های مطالعه زیست‌شناسی سیستم‌ها نظیر مطالعه ترانس‌کریپتوم، مطالعه توالی‌های ژنومی و SNP‌ها همراه شوند بیش از پیش سودمند خواهند بود.

علاوه بر کاربردهای گسترده پروتئومیکس در پزشکی، این فناوری می‌تواند در بیوتکنولوژی (مثلاً برای بررسی میکروبها و گیاهان تولیدکننده متابولیت‌های ثانویه) مورد استفاده قرار گیرد. همچنین از روشهای پروتئومیکس برای مطالعه موجودات زنده تغییر یافته ژنتیکی، و شناسایی پروتئین‌هایی که درمقابل با تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی و آفت‌های متفاوت نقش دارند می‌توان استفاده کرد. از طرف دیگر آنالیزهای پروتئومیکس مارکرهای پروتئینی دراختیار می‌گذارند که می‌توان از آنها برای تکمیل نقشه ژنتیکی موجودات زنده استفاده کرد. بدین ترتیب محققین با یک حلقه بازگشتی مواجه هستند: ژنومیکس به شناسایی پروتئوم کمک می‌کند، و داده‌های پروتئومیکس در تکمیل نقشه ژنوم کاربرد دارند.

کاربردهای پروتئومیکس در پزشکی

شناسایی بیومارکرهای پروتئینی

یک بیومارکر ویژگی خاصی از یک نوع سلول، بافت یا موجود زنده است که نشان‌دهنده وضعیت فیزیولوژیک آن می‌باشد. در پزشکی، مهمترین بیومارکرها آنهایی هستند که با بروز بیماری ظاهر می‌شوند و با اتمام بیماری از بین می‌روند. بیومارکرهایی که برای تحقیق درباره بروز بیماری به کار می‌روند بسیار متنوعند و از میان آنها می‌توان به وجود میکروارگانسیم‌های بیماریزا، تغییر مشخصات بافت‌شناختی و سلولی، وقوع جهش‌هایی در ژنهای خاص یا کروموزوم‌ها، بیان رونوشت از ژنهایی که در حالت عادی خاموش هستند یا بیان پروتئین‌های مربوطه، بروز تغییرات

پس از ترجمه جدید روی پروتئین‌ها و یا تغییر در میزان بیان پروتئین‌ها اشاره کرد. امروزه بیشتر به بیومارکرهای مولکولی مانند جهش‌ها، mRNA و پروتئین‌ها توجه می‌شود، چرا که در بسیاری از موارد پیش از آنکه علائم بالینی بیماریها ظاهر شود تغییرات مولکولی وابسته به بیماری قابل شناسایی هستند و این موضوع می‌تواند ما را در تشخیص زودرس بیماری و اقدام به درمان یاری کند. علاوه بر این، بیومارکرهای مختلفی ممکن است وجود داشته باشند که با استفاده از آنها بتوان مراحل پیشرفت بیماری و روش درمانی را مورد تعقیب قرارداد.

پروتئین‌ها به دلایل مختلف بیومارکرهای بسیار خوبی محسوب می‌شوند. با بررسی پروتئین‌ها می‌توان مستقیماً عوامل مؤثر در بیماری را مطالعه قرار داد. از سوی دیگر، تنها با مطالعه پروتئین‌هاست که می‌توان تغییرات پس از ترجمه را (که در بسیاری از موارد در تعیین عملکرد پروتئین نقشی تعیین‌کننده دارند) مورد بررسی قرارداد، و با استفاده از بیومارکرهای DNA یا mRNA نمی‌توان چنین کاری انجام داد. علاوه بر این، بیومارکرهای پروتئینی را می‌توان در مایعات بدن مانند ادرار، سرم خون، مایع مغزی نخاعی، مایعات مفصلی، مایعات لنفی و ترشحات چشم اندازه‌گیری نمود. این ویژگی از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است، زیرا نمونه‌گیری از مایعات بدن در مقایسه با بافتهای غیرمایع کاری بسیار کم هزینه‌تر و کم خطرتر است و نیاز به جراحی و سایر روش‌های تهاجمی را نیز در بسیاری از موارد از بین می‌برد، در عین حال که بیمار دچار درد و مشکلات کمتری می‌شود.

یک بیومارکر خوب، باید برای بیماری کاملاً اختصاصی باشد، یعنی فقط در شرایط بیماری بروز کند. شناسایی یک بیومارکر مستلزم انجام مطالعه‌ای دقیق و وسیع در یک جمعیت بزرگ از نژادهای مختلف است، چرا که یک بیومارکر ممکن است در هنگام یک بیماری خاص در یک نژاد مشخص دیده شود، در حالی که در جمعیت دیگر این بیومارکر در هنگام بیماری دیده نشود و یا حتی برعکس، در شرایط غیربیماری نیز بتوان آن را مشاهده نمود. متأسفانه بیومارکرهای ایده‌آل بسیار نادرند و غالباً بیومارکرها در چند بیماری به‌طور مشترک ظاهر می‌شوند (هرچند احتمال دارد که میزان بیان متفاوتی داشته باشند). در این میان روش‌های پروتئومیکس از اهمیت زیادی برخوردارند، زیرا می‌توانند الگوی بیان چندصد پروتئین را به‌طور همزمان بررسی نمایند. در حال حاضر روش‌های تشخیصی تجاری که برای شناسایی بیماریها به کار می‌روند عمدتاً بر پایه سیستم‌های ELISA هستند که وجود بیومارکرهای پروتئینی را در مایعات بدن کنترل می‌کنند. در بیشتر موارد ابداع این روش‌ها به کشف تصادفی پروتئین‌هایی وابسته

بوده است که بیان آنها در هنگام بیماری به طرز قابل ملاحظه‌ای دستخوش تغییر می‌شود. پروتئومیکس این مکان را به وجود می‌آورد که به جای تکیه بر تصادف، با مقایسه الگوهای بیان پروتئین در نمونه‌های اشخاص بیمار و سالم پروتئین‌هایی را انتخاب کنیم که می‌توانند به صورت بالقوه به عنوان بیومارکر مورد استفاده قرار بگیرند.

بانکهای بیومارکری: استفاده از بیومارکرها در بررسی مکانیسم بیماری، شناسایی زودرس بیماری و به اجرا- درآوردن برنامه‌های پیش‌گیری از بیماری (خصوصاً در مواردی که روش‌های کلینیکی رایج ناکارآمد بوده و یا اصلاً روش‌های تشخیص به موقع کلینیکی وجود ندارد)، پیگیری مراحل پیشرفت بیماری، و در تفکیک و تشخیص بیماری‌های مشابه از یکدیگر مورد توجه زیادی قرار گرفته است. با این وجود، در موارد فراوانی امکان استفاده از اطلاعاتی که منجر به بکارگیری یک بیومارکر معتبر شود وجود ندارد، و یا اینکه بیومارکر به صورت کارآمد نمی‌تواند وقوع بیماری را قاطعانه تأیید کند. در حال حاضر تعداد بیومارکرها معتبر در زمینه‌های مهم پزشکی و بالینی هنوز نسبتاً کم است.

با ساختن منابع اطلاعاتی بیومارکر¹ قابل اعتماد و جمع‌آوری اطلاعات حاصل از پروژه‌های ژنوم و داده‌های حاصل از آنالیزهایی نظیر پروتئومیکس و متابولومیک اطلاعات مناسبی در خصوص علت‌شناسی بیماری‌ها، پیشگیری و بررسی احتمال بروز آنها فراهم شده که سهم بسزایی در کاهش هزینه‌های درمانی و مرگ و میر خواهد داشت. با فراهم آمدن امکان جایگزینی بیومارکرها به جای علائم دیگر بیماریها (که معمولاً در مراحل پیشرفته بیماری بروز می‌یابند) آینده‌ای نویدبخش برای استفاده از بیومارکرها مورد انتظار است که می‌تواند سیاست‌های بهداشتی را تحت تأثیر قرار دهد.

تعدادی از بیومارکرها پروتئینی که ویژه انواع خاصی از سرطان هستند

نوع سرطان	نوع مارکر
سرطان تخمدان	CA125 مارکرهای معمولی
سرطان راست‌روده، پستان، ریه، پانکراس	آنتی‌ژن کارسینوما بریونیک
هپاتوما و سرطان بیضه	α -فتوپروتئین

²: Biomarker Databases

سرطان پروستات	آنتی ژن ویژه پروستات	
سرطان مهاجم تخمدان	RHOGDI, FK506BP و گلی اکسالاز - ۱	مارکرهایی که
مراحل اولیه سرطان پروستات و مری	آنکسین - ۱	به کمک
سرطان پستان	HSP27, HSP60, HSP90, PCNA, RS/DJ1	تکنولوژی
		پروتئومیکس
	۰ ۱ ۲ ۳ ۴ ۵ ۶ ۷ ۸ ۹ ۱۰	معرفی شده‌اند
سرطان ریه	PGP9.5	سیتوکراتین‌ها و
کارسینومای هپاتوسلولار	Hcc-1, B1	سارکوزین دهیدروژناز، لامین
لوسمی	Op18, nm23-H1	
سرطان کولورکتال	S100-A11, S100-A9, HSP70	
سرطان مثانه	(psoriasin)	کراتین‌ها، سوریا سین

سرطان بیش از سایر بیماریها به وسیله روش‌های پروتئومیکس مورد مطالعه قرار گرفته است، شاید به این دلیل که می‌توان هم نمونه سرطانی و هم نمونه سالم را (به مقدار کافی) از یک فرد گرفت و بدین ترتیب یافتن بیومارکرها آسانتر می‌شود، زیرا تفاوت‌های مشاهده شده نمی‌تواند به تفاوت‌های ژنتیکی افراد مربوط شود و بررسی پروتئین‌های ویژه هر نوع سرطان را در الگوی ژل دوبعدی می‌توان راحت‌تر تشخیص داد. در یک بررسی توسط Hanash و همکارانش، بیومارک‌های متعددی پیشنهاد شدند که می‌توانستند انواع مختلف لوسمی را از یکدیگر شناسایی کنند. برای مثال یکی از پروتئین‌های شناسایی شده استاتمین (Stathmin) نام دارد که بیومارکری قابل اعتماد در شناسایی لوسمی کودکان است. جالب آنکه تنها نوع فسفریله این پروتئین در بیماری نقش دارد.

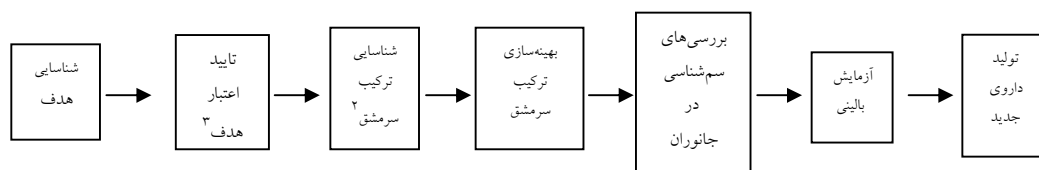
استفاده از تراشه‌های پروتئینی برای کشف بیومارکرها و مطالعه الگوهای بیان

با استفاده از تراشه‌های پروتئین می‌توان با مقدار بسیار کمی از نمونه چندین پروتئین را بطور همزمان مورد بررسی قرارداد و بدین ترتیب شناسایی بیومارکرها (و نیز الگوهای پروتئینی برای اهداف تشخیصی) تسهیل می‌گردد. از

انواع تراشه‌های پروتئینی به‌طور گسترده‌ای برای شناسایی بیومارکرها استفاده شده است. مثلاً آرایه‌های آنتی‌بادی^۱ همراه با LCM برای شناسایی مارکرهاى کارسینومای سلول‌های پوششی دهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با استفاده از تراشه‌های SELDI نیمه اختصاصی، می‌توان الگوهای پروتئینی نمونه‌های زیستی سالم و بیمار را با هم مقایسه نمود که در بعضی موارد به شناسایی پروتئین‌هایی با میزان بیان متفاوت منجر می‌شود. برای مثال با این روش دیفنسین^۲‌های زیادی در سلول‌های CD8 شناسایی شده‌اند که در پاسخ ضد ویروسی تولید می‌شوند و می‌توانند به عنوان بیومارکر مورد استفاده قرار گیرند.

کاربرد پروتئومیکس در طراحی داروها

تولید یک دارو به دنبال یک فرایند پیچیده، طولانی و پرهزینه انجام می‌شود (نمودار ۴-۲). به‌طور متوسط گفته می‌شود هر کاندیدای دارویی پیش از آنکه وارد بازار گردد در حدود ۷۰ میلیون دلار هزینه دارد و برای تولید آن در حدود ۲۵۰ نفر سال کارانجام شده است. با توجه به آنکه بیشتر داروهای کاندیدا در نهایت مورد استفاده قرار نمی‌گیرند، یک تخمین بهتر برای هزینه متوسط تولید صنعتی یک دارو در حدود ۷۰۰ میلیون دلار است! داروهای معدودی هستند که می‌توانند پس از صرف چنین هزینه هنگفتی در بازگشت سرمایه موفق عمل کنند.



نمودار مراحل اساسی در تولید دارو

بدین ترتیب جای تعجب نیست که شرکتهای دارویی از هرگونه تکنولوژی جدیدی که می‌تواند سرعت کشف داروهای جدید را افزایش دهد سریعاً استقبال می‌کنند (زیرا افزایش سرعت بررسی داروها و شناسایی سریع‌تر

^۱: Antibody Array
^۲: Defensin

داروهایی که به مرحله تولید نخواهند رسید می‌تواند از اتلاف هزینه‌های هنگفتی جلوگیری نماید). برخی از این تکنولوژی‌ها عبارتند از شیمی ترکیباتی^۱، جستجوی کامپیوتری (*in silico*)، روش‌های غربال‌گری مقیاس بزرگ و روش‌های ژنومیکس و پروتئومیکس.

کاربرد پروتئومیکس در شناسایی هدف

بیومارکرهای بیماری که توسط پروتئومیکس شناسایی می‌شوند، پروتئین‌هایی هستند که بیان آنها مختص بافتهای سالم و یا بیمار بوده (و یا بیان آنها در این دو بافت تفاوت عمده‌ای دارد). در بیشتر موارد این پروتئین‌ها به علت بروز بیماری ظاهر یا ناپدید می‌شوند، اما مواردی نیز وجود دارد که حضور یا عدم حضور آنها خود باعث بروز بیماری می‌شود. به این ترتیب پروتئین‌هایی که فقط در هنگام بروز بیماری بیان می‌شوند نه تنها بیومارکرهای خوبی هستند، بلکه این احتمال وجود دارد که این پروتئین‌ها اهداف مناسبی برای درمان هم باشند. علاوه بر این، هنگامی که در یک بیماری پروتئینی بیان نشود، خود این پروتئین می‌تواند به صورت بالقوه می‌تواند کاربرد دارویی داشته باشد و آنالیز مقایسه‌ای پروتئوم‌ها می‌تواند ما را به شناخت چنین پروتئین‌هایی که دارای خواص درمانی هستند هدایت کند. یکی دیگر از راههای شناسایی پروتئین‌های هدف، بررسی و مقایسه وضعیت پروتئوم در سلولها و بافتهای بیمار شده به وسیله یک مولکول تنظیمی (مانند هورمون رشد یا سیتوکین‌ها) است. از آنجا که این مولکولها رفتارهای مختلف سلولی مانند تکثیر^۲، تمایز و اتصالات سطحی را کنترل می‌کنند، می‌توانند در مدل‌سازی نتایج بروز بیماری مورد استفاده قرارگیرند. برای مثال، در یک بررسی فسفوپروتئین‌هایی که تولید آنها در سلولهای **HeLa** به وسیله فاکتور رشد اپیدرمی القا می‌شد، شناسایی شدند. در این تحقیق از آنتی‌بادیهایی استفاده شد که به پروتئینهای دارای فسفوتیروزین متصل می‌شدند، و بدین ترتیب مقایسه در سطح فسفوپروتئوم‌های خالص شده انجام گرفت. اهداف بالقوه طراحی دارو در لئوسیت‌هایی که به وسیله ایتترفرون α و ایتترلوکین-۲ تیمار شده بودند

¹: Combinatorial Chemistry

³: Target Validation

²: Lead

^۲: Proliferation

با همین روش مورد شناسایی قرار گرفتند. علاوه بر شناسایی اهداف جدید دارویی در انسان، می‌توان از روش‌های پروتئومیکس برای شناسایی اهداف در پروتئوم پاتوژن‌ها استفاده کرد.

روشهای درمانی در بیماریهای عفونی به طرق مختلفی با عوامل بیماریزا مقابله می‌کنند. برخی روشهای درمانی باکتری‌های بیماریزا را با تأثیر بر ژنهای حیاتی و عملکرد آنها از بین می‌برند. مواد ضدباکتری حاصل از چنین استراتژی‌هایی با بازدارندگی رشد باکتری حتی در شرایط رشد استاندارد، اثر خود را اعمال می‌نمایند. روشهای دیگری نیز وجود دارند مانند هدف قراردادن ژنهایی که برای بقاء باکتری حیاتی نیستند، ولی در بیماریزایی آن مؤثرند مثل فاکتورهایی که برای شروع عفونی‌شدن مهمند و آنهایی که در پیشرفت بیماری اثر دارند و همین‌طور استراتژی‌هایی که در راستای تقویت دفاع انسان برای مقابله با عامل عفونی می‌باشند.

تیمار یک باکتری با یک آنتی‌بیوتیک از یک کلاس ثبت‌شده (با مکانیسم عمل شناخته‌شده)، آگاهی خوبی از فیزیولوژی موجود و مسیرهای متابولیسمی آن به دست می‌دهد. انتظار می‌رود هر ماده ضدباکتری حداقل زمانی که غلظت دارو آنقدر پایین باشد که موجب مرگ یا لیزشدن سلول باکتری نشود پاسخ خاصی را در پروتئوم باکتری القاء کند که بازگوکننده اثر آن ماده بر فیزیولوژی باکتری باشد. در کاربرد پروتئومیکس در کشف آنتی‌بیوتیک‌ها از روشی مشابه با آنچه که برای مطالعه پاسخ فیزیولوژیکی به استرس‌های محیطی به‌کار می‌رود، می‌توان بهره برد.

یکی از اولین کاربردهای پروتئومیکس که به آسانی به ذهن می‌رسد، شناسایی هدفهای ماده ضدباکتری جدید می‌باشد، یعنی اهدافی که با بازداري آنها آنتی‌بیوتیک‌ها بتوانند اثر خود را اعمال کنند. پروتئین‌هایی در باکتری وجود دارند که بعد از حمله آنتی‌بیوتیکی بیان متفاوتی خواهند داشت و می‌توان آنها را نیز به عنوان هدفهایی جدید جهت افزایش فعالیت داروی تحت مطالعه، مثلاً در درمان ترکیبی (با دو ماده ضدباکتری)، و یا به عنوان هدفهای دارویی مستقل، مورد بررسی قرار داد.

پروتئومیکس و تأیید اعتبار هدف

پروتئومیکس و سایر روش‌های مقیاس بزرگ در شناسایی پروتئین‌های هدف انقلاب مهمی ایجاد کرده است، اما این امر سبب شده است در مرحله تأیید اعتبارهدف^۱ یک گلوگاه^۲ به وجود آید. در مرحله تأیید اعتبار، این موضوع بررسی می‌شود که آیا ایجاد اختلال در عملکرد پروتئین هدف می‌تواند تغییراتی سودمند در روند بیماری ایجاد کند یا نه. برای تأیید اعتبار یک هدف جدید به طور معمول یک تا دو سال وقت صرف می‌شود.

در این مرحله می‌توان از روش‌های مختلف ژنومیکس و پروتئومیکس بهره برد، که از این میان می‌توان به آنالیزهای ساختاری، مطالعه برهمکنش‌های این پروتئین با سایر پروتئین‌ها، مطالعات بیان پروتئین (برای تحقیق درباره اینکه با بیان بیش از حد و یا سرکوب بیان این پروتئین چه فنوتیپی مشاهده می‌شود)، و بررسی تنوع ژنتیکی پروتئین هدف در افراد جمعیت اشاره کرد. هدفهایی که در یک جمعیت پلی‌مرفیسم زیادی از خود نشان می‌دهند معمولاً نامناسبند، زیرا احتمال دارد واریته‌های مختلف پروتئین پاسخ‌های متفاوتی به دارو نشان دهند. در چنین مواردی می‌توان با استفاده از روش‌های ژنتیکی و بیوشیمیایی به دنبال پروتئین‌هایی گشت که با این پروتئین برهمکنش دارند و در یک مسیر پیام‌رسانی یا متابولیسمی مشترک نقش ایفا می‌کنند، و در عین حال پلی‌مرفیسم کمتری از خود نشان می‌دهند و احتمالاً هدفهای مناسبتری هستند.

استراتژی دیگری که مبتنی بر پروتئومیکس است و می‌تواند برای تأیید اعتبارهدف به کار رود استفاده از کاوشگرهای تمایلی^۳ برای انتخاب پروتئین‌هایی است که می‌توانند به یک مولکول خاص (دارو) متصل شوند. پروتئین‌های هدفی که با این روش غربالگری شیمیایی انتخاب می‌شوند در حقیقت به گونه‌ای انتخاب شده‌اند که به احتمال زیاد مولکول کوچک مورد بررسی (دارو) به عنوان مهارکننده آنها عمل می‌کند.

پروتئومیکس در طراحی ترکیبات «سرمشق»^۴

^۱: Target Validation

^۲: Bottleneck

^۳: Affinity-Based Probes

^۴: Lead Compounds

در طول مراحل شیمیایی طراحی دارو، روش‌های پروتئومیکس خاصی می‌توانند شناسایی و بهینه‌سازی ترکیب سرمشق را سریع ترکند. برای مثال، با روش‌های ایتراکتومیک می‌توان در میان ترکیبات سرمشق ترکیبی را جستجو کرد که فعالیت‌های مورد نظر را به طور سودمندی مهار کند. می‌توان از زیست‌تراشه‌های پروتئینی برای مطالعه برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین در سیستم‌های *in vitro* در حضور یا عدم حضور ترکیبات سرمشق مختلف استفاده کرد و بدین ترتیب به سرعت می‌توان ترکیباتی را که مانع از اتصالات معمولی پروتئین‌ها می‌شوند، شناسایی نمود. بدین ترتیب، احتمال آنکه این ترکیب بتواند برهمکنش پروتئین‌ها را در سیستم‌های زنده و سلول‌ها مهار کند به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. پس از انتخاب ترکیب سرمشق، می‌توان از استراتژی مشابهی برای بهینه‌سازی این ترکیب دارویی استفاده کرد، بدین ترتیب که می‌توان در حضور مشتقات ترکیب سرمشق، برهمکنش پروتئین‌ها را به منظور شناسایی بهترین دارو مطالعه نمود. با استفاده از سیستم‌های دوهیبریدی مخمر می‌توان برهمکنش‌ها را در سیستم‌های *in vivo* نیز مورد مطالعه قرار داد و ترکیباتی را انتخاب نمود که بیش از بقیه از برهمکنش‌های پروتئینی ممانعت می‌کنند.

پروتئومیکس ساختاری می‌تواند در بهینه‌سازی ترکیبات سرمشق نقش مهمی ایفا کند: می‌توان با مطالعه کامپیوتری (*in silico*) ساختار پروتئین‌ها پیش از انجام آزمایش‌های تجربی ویژگی‌های برهمکنش را پیش‌بینی کرد. موفقیت در این روش مستلزم آن است که پایگاه‌های داده‌ای از ساختارهای سه‌بعدی داروها و پروتئین‌ها تهیه شود که بعداً بتوان به وسیله نرم‌افزارهای مناسب، برهمکنش ترکیبات شیمیایی (داروها) را با پروتئین‌های مناسب جستجو کرد. پس از انتخاب ترکیباتی که با احتمال بیشتر به هدف متصل می‌شوند، می‌توان این موضوع را در سیستم‌های *in vitro* و *in vivo* تحقیق و تأیید نمود. روش‌های دیگر شامل انتخاب هدف‌ها با کاوشگرهای تمایلی (براساس برهمکنش با گروه مولکولی مورد نظر) و نیز استفاده از ترکیبات سرمشقی است که برهمکنش شناخته‌شده‌ای با مولکول هدف دارند. با استفاده از چنین روش‌هایی نیاز به جستجو در کتابخانه‌های شیمیایی (تقریباً) از بین می‌رود. به چنین روش‌های «طراحی هدفمند دارو»¹ گفته می‌شود. برخی از داروهایی که امروزه مورد استفاده قرار می‌گیرند با این روش‌ها طراحی و شناسایی شده‌اند. برای مثال می‌توان به **Relenza** که در درمان آنفلوآنزا به-

¹: Rational Drug Design

کار می‌رود اشاره نمود. این دارو با جستجو به دنبال مولکول‌هایی کشف شد که با یک پروتئین ویروسی به نام نورامینیداز برهمکنش می‌دادند.

پروتئومیکس باکتریایی

در مقایسه با سلول‌های یوکاریوتی، باکتری‌ها مدل‌هایی عالی برای مطالعه شبکه‌های تنظیمی، عملکرد پروتئین و حتی تمایز سلولی می‌باشند، چرا که ژنوم آنها نسبتاً کوچک بوده و فرایندهای سازگاری در آنها، پیچیدگی کمتری داشته و ترکیبات پروتئینی کمتری در آن دخیلند.

عوامل بسیاری وجود دارند که امروزه و حتی در جوامع پیشرفته نیز ابتلا به بیماری‌های عفونی (باکتریایی) را موجب می‌شوند؛ در نتیجه، نیاز مبرمی به ترکیبات ضدباکتری جدید که مقاومت متقاطع با دیگر آنتی‌بیوتیک‌های موجود ایجاد نکنند وجود دارد. در چنین شرایطی، آنالیز پروتئوم حاصل از تیمارهای ضد میکروبی، توجه بسیاری را به خود جلب می‌کند. این مطالعات از یک سو چگونگی پاسخ باکتری به یک تیمار ضد میکروبی خاص را روشن می‌کند و از سوی دیگر، فواید دیگری در مراحل مختلف توسعه دارو، نظیر شناسایی هدف‌های دارویی جدید و فهم مکانیسم مولکولی عمل کاندیداهای دارویی جدید، مفید خواهند بود.

بررسی پاسخ باکتری به تغییرات شرایط محیطی و تیمار با آنتی‌بیوتیک‌ها

تحت شرایط رشد بهینه باکتری ترکیب پروتئینی سلول معمولاً ثابت می‌باشد، اما بیرون از آزمایشگاه باکتری کمتر با شرایط بهینه روبرو بوده و اغلب، شرایط رشد به تبع pH، اسمولاریته، مواد مغذی در دسترس، میان‌کنش با میزبان و غیره متغیر می‌باشند. این استرس‌های طبیعی را باید از استرس‌های ناشی از آنتی‌بیوتیک‌ها، مجزا کرد. موفقیت تکاملی باکتری‌ها طی تکامل، قویاً وابسته به میزان انعطاف‌پذیری آنها در پاسخ به این شرایط می‌باشد و گونه‌های مختلف باکتری تغییرات محیطی گوناگونی را تجربه کرده‌اند تا اینکه برخی از مکانیسم‌های پاسخ در آنها حفظ شده است. نظیر مطالعه گیاهان و جانوران، در مورد باکتری‌ها نیز پروتئومیکس ابزار قدرتمندی را برای مطالعه

اثر فرایندهای تنظیمی بر ترکیب پروتئینی سلول فراهم می‌نماید. در اینجا به برخی از دیدگاههایی که در مطالعات پروتئومیکس باکتریها به کار رفته‌اند اشاره خواهد شد.

۴ تعیین نقشه پروتئومی

ژنوم حاوی اطلاعات ارزشمندی برای بقای یک موجود است، اما داشتن توالی ژنومی معین نمی‌کند که کدام ژن تحت کدام شرایط بیان می‌شود؛ بنابراین به آنالیزهای پروتئینی عمومی جهت تعیین ترکیب پروتئینی یک سلول معین تحت شرایط مشخص نیاز می‌باشد. با کمک ژل‌های دوبعدی و به دنبال آن شناسایی پروتئینها با روشهای طیف‌سنجی جرمی می‌توان لکه‌های روی ژل را به توالی کدکننده آنها مرتبط ساخت. متأسفانه همه پروتئینها به خوبی روی ژل تفکیک نمی‌شوند و با مقدار آنها برای آشکارسدن روی ژل کافی نمی‌باشد؛ با این همه پروژه نقشه پروتئوم در برخی موجودات پیشرفت زیادی کرده است. مثلاً نقشه مایکوپلازما نومونیا تا ۴۴ درصد ORFهای پیش‌بینی شده را پوشش می‌دهد.

تهیه چنین نقشه‌های مرجع پروتئینی (شکل ۴-۲) نقطه شروعی برای بسیاری مطالعات فیزیولوژیکی خواهد بود. با این حال چون نقشه‌های پروتئومی حاوی ژل‌های مجازی‌اند و نه واقعی (و دربرگیرنده کلیه پروتئین‌هایی هستند که طی مطالعات مختلف در آن موجود شناسایی شده‌اند) چنین نقشه‌هایی نمی‌توانند بیانگر پروتئین‌های بیان‌شده تحت یک شرایط معین باشند. برای دستیابی به چنین اطلاعاتی به پروفایلهای بیان پروتئین نیازاست.

پروفایل بیان پروتئین

پروفایل بیان پروتئین، به عکس نقشه پروتئومی، مجموعه‌ای کمی از پروتئین‌های ساخته شده توسط یک سلول تحت شرایط معین را نمایش می‌دهد. ژل‌های دوبعدی کلاسیک همچنان برای این منظور به کار می‌روند، هر چند همه پروتئین‌ها به خوبی بر روی ژل جدا نمی‌شوند.

به همه پروتئین‌هایی که بیانشان در پاسخ به یک محرک تغییر می‌کند یک استیمولن (Stimulon) گفته می‌شود. واژه استیمولن مبین تغییرات بیان پروتئین در سطح فنوتیپ (و نه تنظیم رونویسی) است. از سوی دیگر، یک

رگولن (regulon) شامل پروتئین‌هایی است که تحت کنترل تنظیم‌کننده رونویسی یکسانی هستند. حتی در باکتری نیز، یک استیمولن معمولاً شامل بیش از یک رگولن می‌باشد. مثلاً برای استیمولن شوک حرارتی در باسیلوس سوبتیلیس سه رگولن وجود دارد (شکل ۴-۳) [26-27]. با مطالعه بیان دسته‌ای از پروتئین‌ها تحت انواع شرایط رشد مختلف به پروتئین‌هایی می‌رسیم که نشان‌دهنده یک حالت فیزیولوژیکی مشخص در سلول هستند. چنین زیرگروه پروتئینی را امضای پروتئومی (Proteomic Signature) می‌نامند. چنین امضاهایی در مطالعه فیزیولوژی باکتری در حضور عوامل استرس‌زای خارجی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار سودمند و به این طریق می‌توان مولکولها، گروه‌ها و واکنش‌هایی را که تحت اثر این آنتی‌بیوتیک‌ها قرار می‌گیرند تعیین کرد.

مطالعه دینامیک سنتز پروتئین‌ها:

سازگارشدن با تغییرات شرایط رشد، که برای بقای سلول ضروری است، در سطوح مختلف رخ می‌دهد: تنظیم در مرحله رونویسی، پس از رونویسی و مرحله ترجمه. پروتئومیکس بر اساس ژل دوبعدی، امکان دنبال‌کردن تغییرات سرعت سنتز پروتئین را فراهم می‌کند. در مواجهه با شرایط جدید، سلول ظرفیت بالای ترجمه را جهت سنتز مقادیر کافی از پروتئین‌های ضروری به کار می‌گیرد. نشان‌دارکردن ضربانی^۱ پروتئین‌ها با ^{35}S -[L] - متیونین روشی بسیار حساس جهت آشکارسازی بخش جدیداً سنتز شده پروتئین، توسط اتورادیوگرافی می‌باشد. زمانهای کوتاه نشان‌دارکردن کمک می‌کند تا پروتئین‌های سنتز شده را در هر نقطه زمانی دوره تطابق با شرایط جدید بتوان مشاهده کرد. اولین بار در سال ۱۹۹۹ روش تصویربرداری دوکانالی^۲ برای تسهیل مقایسه پروتئین‌های جدیداً سنتز شده آشکار شده بر روی اتورادیوگرافها با مقادیر پروتئینی قابل آشکارسازی با رنگ‌آمیزی نقره، به کار گرفته شد. در این روش پروتئین‌هایی که در آخرین پالس سنتز شده‌اند به رنگ قرمز در می‌آیند، آنهایی که قبلاً بیان شده‌اند اما اکنون بیان آنها متوقف شده به رنگ سبز و پروتئین‌هایی که در هر دو روش آشکار شده‌اند، یعنی سنتز آنها از قبل ادامه یافته، به رنگ زرد نمایان می‌گردند.

تغییرات شیمیایی و پردازش پروتئین‌ها

²: Pulse-Labeling

³: Dual-Channel Imaging

یکی از فواید پروتئومیکس بر پایه ژل دوبعدی، تشخیص تغییرات شیمیایی پروتئین‌هاست. این تغییرات معمولاً منجر به مهاجرت پلی‌پپتید به یک موقعیت pI/M_r متفاوت روی ژل می‌گردد. از آنجا که چنین تغییراتی معمولاً با عملکرد یا فعالیت پروتئین مرتبط است، دانستن چنین اطلاعاتی برای تعیین حالت فیزیولوژیکی سلول سودمند می‌باشند.

وضعیت پروتئومیکس در جهان

آشنایی با برخی نشریات مرتبط با پروتئومیکس

در این قسمت برخی نشریات مرتبط با پروتئومیکس معرفی می‌شوند. بدیهی است که این نشریات تنها نمونه‌هایی از نشریاتی هستند که به طور کامل یا جزئی بخشی از مقالات منتشره خود را به موضوع پروتئومیکس اختصاص داده‌اند، و فهرست این نشریات در حال گسترش است.

Proteomics –

این نشریه یکی از قدیمی‌ترین و معتبرترین نشریات فعال در زمینه پروتئومیکس است که از سال ۲۰۰۱ فعالیت خود را آغاز کرده است و مقبولیت و اعتبار زیادی دارد. در حال حاضر **Proteomics** به چاپ مقالاتی در زمینه تکنیک‌ها و کاربردهای پروتئومیکس می‌پردازد.

Molecular and Cellular Proteomics –

این نشریه که توسط انجمن بیوشیمی و زیست‌شناسی مولکولی آمریکا منتشر می‌شود معتبرترین نشریه پروتئومیکس محسوب می‌گردد.

Journal of Proteome Research –

این نشریه در حال حاضر از معتبرترین نشریات پروتئومیکس است. در این نشریه مقالاتی در زمینه تحلیل سیستم‌های زیستی و آنالیز فراگیر پروتئین‌ها و عملکرد آنها انتشار می‌یابد.

Expert Review of Proteomics –

در این نشریه تنها مقالات مروری (Review) به چاپ می‌رسند. در این نشریه تلاش می‌شود که راجع به هر موضوع، دیدگاه جامعی از اهمیت یک تکنولوژی خاص در تحقیقات یا کاربردهای پزشکی ارائه گردد.

Brifings in Functional Genomics and Proteomics –

در این نشریه هم مانند نشریه قبلی تنها مقالات مروری منتشر می‌شوند، که به تکنیک‌ها، پروتوکل‌ها و روش‌های مورد استفاده در تحقیقات ژنوم و پروتئوم می‌پردازند.

Current Proteomics –

هدف این نشریه نیز انتشار مقالات مروری در زمینه پروتئومیکس است. در این نشریه تمامی موضوعات مربوط به پروتئومیکس شامل روش‌ها، نرم‌افزارها، پایگاه‌های اطلاعاتی، پیشرفت‌های تکنیکی و کاربردهای جدید پروتئومیکس مورد بررسی قرار می‌گیرند. علاوه بر مقالات مروری، مقالاتی که به تبیین اهمیت تحقیقات و یافته‌های جدید در زمینه پروتئومیکس می‌پردازند نیز مورد توجه هستند.

BBA-Proteins & Proteomics –

این بخش از نشریه BBA درحقیقت یک نشریه تخصصی پروتئومیکس محسوب نمی‌شود. و بیشتر به انتشار مطالبی در زمینه ساختمان پروتئین‌ها، برهمکنش لیگاند-پروتئین، مکانیسم‌ها، مدل‌ها و سینتیک آنزیمی، ویژگی‌های فیزیکی پروتئین‌ها، اسپکتروسکوپی و نیز مقالات کریستالوگرافی می‌پردازد.

Clinical Proteomics –

هدف این نشریه انتشار مقالات مربوط به کاربردهای تکنولوژی پروتئومیکس در تحقیقات پزشکی است.

Cancer Genomics Proteomics –

این نشریه به چاپ مقالات تحقیقاتی و مروری در زمینه کاربردهای ژنومیکس و پروتئومیکس در پژوهش‌های پایه، و نیز پژوهش‌های بالینی سرطان می‌پردازد. در این نشریه موضوعات زیر مورد توجه ویژه است: (۱) علل مولکولی کارسینوژنز، گسترش سرطان و متاستاز. (۲) ساختار و عملکرد ژنها در سرطان. (۳) پیشرفتهای تکنیکی

ژنومیکس و پروتئومیکس که در تحقیقات سرطان مفیدند. (۴) طراحی هدفمند داروهای ضدسرطان. در این نشریه خلاصه مقالات برخی سمینارهای علمی نیز به چاپ می‌رسد.

Genomics, Proteomics & Bioinformatics –

این نشریه توسط آکادمی علوم چین حمایت می‌شود و مدیریت آن برعهده انستیتو پروتئومیکس **Beijing** است. در این نشریه نتایج تحقیقات ژنومیکس، پروتئومیکس و بیوانفورماتیک انتشار می‌یابد. مقالاتی که به منابع اینترنتی و تکنیک‌های ژنومیکس و پروتئومیکس مربوط می‌شوند نیز می‌توانند مدنظر قرار گیرند.

Proteome Science –

این نشریه به صورت **online** منتشر می‌شود و دسترسی به متن کامل مقالات آن محدودیتی ندارد. مقالات این نشریه درمورد پروتئومیکس و علی‌الخصوص آنالیزهای پروتئومیکس ساختاری و عملکردی در زمینه زیست‌شناسی سلولی و تکوین هستند. در این نشریه مقالات تحقیقاتی، تکنیک‌ها و مقالات مروری به چاپ می‌رسند.

Omics: A Journal of Integrative Biology –

در این نشریه مقالات ژنومیکس، ترانس‌کریپتومیکس، پروتئومیکس، متابولومیک، گلیکومیک و مطالعات زیست‌شناسی سیستم‌ها انتشار می‌یابند. پیشرفتهایی که در دوران پس‌ژنومی در زیست‌شناسی و پزشکی حاصل گردیده‌اند مانند فارماکوژنومیکس (اندازه‌گیری کمی وابستگی پاسخ دارویی میزبان‌ها به تغییرات ژنتیکی) و فیزیومیک (**physiomics**)، تغییرات فیزیولوژیکی و عملکردهای آن در یک موجود زنده کامل) در این نشریه مورد توجه هستند.

Proteomics Virtual Journal –

این نشریه مجازی (**virtual**) در حقیقت یک نشریه مستقل نیست، بلکه ویراستارهای آن مقالات جالب توجه را از میان ۱۵ نشریه انتشارات **Elsevier** انتخاب نموده و خلاصه مقالات آنها را بدون هزینه در نشریه خود به صورت **online** ارائه می‌دهند. هر خلاصه مقاله با یک لینک به صفحه اینترنتی نشریه مربوطه ارتباط پیدا می‌کند.

The Internet Journal of Genomics & Proteomics –

این نشریه اینترنتی هم به تازگی راه اندازی شده است و تلاش می‌کند مقالات مرتبط با موضوعات مختلف ژنومیکس و پروتئومیکس را به چاپ برساند.

Proteome –

این نشریه توسط انتشارات **Springer** به چاپ می‌رسیده است ولی انتشار آن خیلی زود متوقف شده است (به نظر می‌رسد تنها در سال ۲۰۰۰ مقالاتی منتشر نموده است). متن کامل مقالات این نشریه از طریق صفحه اینترنتی انتشارات قابل دسترسی می‌باشد.

– سایر نشریات

نشریات زیاد دیگری با پروتئومیکس در ارتباط هستند که نام بردن از تمامی آنها در اینجا مقدور نیست. از این میان می‌توان به نشریاتی که به انتشار تکنیک‌های جدید می‌پردازند مانند **Electrophoresis**، کلیه نشریات مرتبط با طیف‌سنجی جرمی، **J. Chromatogr. A & B, Anal. Chem., Anal. Biochem.** و نشریات بیوانفورماتیکی مانند **Bioinformatics** و **BMC Bioinformatics** اشاره نمود.

انجمن های پروتئومیکس:

در جهان معمول است که دانشمندان، پژوهشگران و دانشجویان یک زمینه علمی به عضویت انجمن های علمی مرتبط با رشته خود درمی آیند. در بیشتر موارد اعضا حق عضویت هم پرداخت می کنند. هدف چنین انجمن های علمی معمولاً آشنایی با منابع پژوهشی موجود و تسهیل دسترسی به آنها، و توسعه و آموزش است. انجمن های علمی معمولاً فعالیتهایی نظیر برگزاری سمینارهای سالانه و انتشار نشریات علمی نیز انجام می دهند. عضویت در چنین انجمن هایی علاوه بر مزایای علمی زیادی که دارد، در بعضی موارد می تواند از جهات دیگر هم سودمند باشد. برای مثال بسیاری از انجمن ها بودجه ای در اختیار دارند که از محل آن به دانشجویان عضو برای شرکت در سمینارهای بین المللی کمک هزینه پرداخت می کنند.

با توجه به رشد سریع پروتئومیکس در جهان، انجمن های پروتئومیکس در کشورهای مختلف تأسیس شده اند. در این بخش به برخی از این انجمن ها اشاره خواهد شد.

Proteome Society -

این انجمن که در سال ۱۹۹۷ ایجاد شده است، یکی از نخستین انجمن ها در زمینه مطالعات پروتئومیکس است. این انجمن به وسیله شرکت های تولیدکننده تکنولوژی های پروتئومیکس حمایت می شود و هدایت آن برعهده یک کمیته مشاورین علمی متشکل از دانشمندان سرشناس می باشد. این انجمن در حال حاضر بیش از دو هزار عضو (از سی و هفت کشور جهان) دارد. این انجمن به صورت یک موسسه غیرانتفاعی در کالیفرنیا مشغول فعالیت است. برای عضویت در **Proteome Society** باید حق عضویت اندکی پرداخت نمود.

اهداف این انجمن عبارت اند از:

- ایجاد فرصتهایی برای آموزش و تبادل اطلاعات بین دانشمندان در سراسر جهان در زمینه تحقیقات پروتئومیکس از طریق ارتباطات حضوری یا محیط های مجازی.
- به وجود آوردن یک محل عمومی برای مباحثات علمی، برگزاری سمینارها و اجتماعات الکترونیکی، و ایجاد فرصتهایی برای بیان ایده ها.

- ایجاد یک منبع اطلاعات پروتئومیکس از طریق انتشار سرمقالات، خودآموزها، فهرست اصطلاحات پروتئومیکس، معرفی فرصتهای شغلی و ایجاد یک گروه مباحثه (discussion board) اینترنتی.
- در سال ۲۰۰۴ انجمن دیگری تحت عنوان **Canadian Proteome Society** ایجاد شد که یک موسسه «خواهر» برای انجمن آمریکایی محسوب می شود و همکاری نزدیکی با آن دارد.

- Swiss Proteomic Society (SPS)

- این انجمن به منظور فراهم کردن فرصتهای تحقیقات پیشرفته، و گسترش و آموزش پروتئومیکس برای عموم پژوهشگران درسویس به وجود آمده است. انجمنی **SPS** انجمن غیرانتفاعی محسوب می شود که مستقل از سیاست و اعتقادات مذهبی فعالیت می کند.
- هدف اصلی **SPS** ایجاد انگیزه و هدایت فعالیتهای مرتبط با پروتئومیکس در سویس و سایر کشورهای جهان است. دو فعالیت عمده این انجمن عبارتند از:

- برگزاری سمینارها و کارگاههای آموزشی در زمینه پروتئومیکس
- ایجاد زمینه ای برای پدیدآوردن ارتباطات میان علاقه مندان به پروتئومیکس

- Center of Proteomic Researches (CPR)

- سازمان غیرانتفاعی **CPR** در مسکو واقع شده است. هشت مؤسسه تحقیقاتی در این موسسه عضویت دارند.
- این سازمان از سوی وزارت صنایع، علوم و فناوری روسیه دارای تأییدیه است.
- مهم ترین اهداف **CPR** عبارتند از:
- فراهم آوردن دانشمندی که در روسیه به تحقیقات پروتئومیکس اشتغال دارند.
- انجام فعالیتهای علمی و آموزشی در روسیه به منظور گسترش دانش و تکنولوژی پروتئومیکس.
- ایجاد ساز و کارهایی برای حمایت دولت از تحقیقات پروتئومیکس.
- سازمان دهی و هدایت نهادهای عمومی که با پروتئومیکس ارتباط دارند.

The Human Proteome Organisation (HUPO) –

HUPO در حقیقت یک کنسرسیوم بین‌المللی از مؤسسات تحقیقات پروتئومیکس در کشورهای مختلف، مؤسسات دانشگاهی، محققان وابسته به دولت و شرکتهای صنعتی و دارویی است.

این مؤسسه در اوایل سال ۲۰۰۱ میلادی ایجاد شد. در حال حاضر دفتر ارتباطات بین‌المللی **HUPO** در مرکز نوآوریهای ژنوم کبک (**Genome Quebec Innovation Centre**) وابسته به دانشگاه **McGill** واقع است. از میان مراکز فعال وابسته به **HUPO** می‌توان به شعبه‌های آن در آمریکا، ژاپن، آلمان، ایتالیا، فرانسه و چین اشاره نمود. در حال حاضر پروژه‌های پروتئوم پلاسما، کبد و مغز انسان (و موش) در این مؤسسه در حال انجام هستند. در این پروژه‌ها تلاش می‌شود تا الگوهای بیان پروتئین‌ها و **mRNA**ها، برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین، تغییرات پس از ترجمه‌ای که روی پروتئین‌ها اعمال می‌شود، محل بیان پروتئین‌ها و پروتئین‌های هدف و بیومارکرها شناسایی شوند. برای این منظور مطالعات پروتئومیکس روی افراد سالم به طورهمزمان روی افرادی که از بیماریهای خاص رنج می‌برند انجام می‌گیرد.

Spanish Proteomics Society (SEProt) –

انجمن پروتئومیکس اسپانیا یک انجمن جدیدالتاسیس محسوب می‌شود. این انجمن به منظور ایجاد انگیزه در توسعه پروتئومیکس در اسپانیا به وجود آمده است و تلاش دارد محققان و کاربران سرویس‌های پروتئومیکس، دانشجویان شرکتهای مرتبط با پروتئوم و پروتئومیکس را گرد هم آورد. برای این منظور **SEProt** سمینارهای منظمی برگزار می‌کند.

Deutsche Gesellschaft Für Proteomforschung e.V. –

انجمن پروتئومیکس آلمان (**DGPF**) در اواخر سال ۲۰۰۱ در بخش بیوشیمی انستیتو ماکس پلانک آلمان به وجود آمد. این مؤسسه تلاش دارد به صورت سازمانی محوری برای هم‌راستا کردن فعالیتهای پروتئومیکس در مناطق مختلف کشور آلمان عمل کند. از دیگر اهداف این انجمن ایجاد ارتباط با سایر برنامه‌ها و انجمن‌های پروتئومیکس در آلمان و سایر کشورهای جهان است. به منظور استفاده بهینه از ظرفیت‌های موجود در آلمان، در بخش‌های مختلف کشور آلمان دفاتر محلی ایجاد کرده است.

Swedish Proteomics Society –

انجمن پروتئومیکس سوئد نیز در اواخر سال ۲۰۰۱، و به دنبال پژوهش‌های کاربردی گسترده‌ای که در سوئد روی شناسایی الگوهای بیانی پروتئین‌ها انجام می‌شده است، ایجاد گردید. این انجمن در حال حاضر بخشی از آکادمی علوم دارویی سوئد (Apotekarsocieteten) محسوب می‌شود. دانشمندان زیادی از مناطق مختلف سوئد (و نیز دانمارک) در این انجمن عضویت دارند و به فعالیت می‌پردازند.

Australasian Proteomics Society –

انجمن پروتئومیکس استرالاسیا (استرالیا+آسیا)

Portuguese Proteomics Network (Rede Proteómica Portuguesa) –

مهمترین هدف شبکه پروتئومیکس پرتغال (ProCura) هماهنگ ساختن و همسو کردن متخصصان و ابزارهایی است که در دانشگاهها و موسسات تحقیقاتی مختلف پرتغال با تحقیقات پروتئومیکس ارتباط دارند. سایر اهداف ProCura عبارتند از:

- ایجاد یک شبکه بین‌رشته‌ای از متخصصان مختلف پرتغال که در تحقیقات مرتبط با پزشکی مشغول هستند، مانند شناسایی پروتئین‌های هدف که در تشخیص و درمان بیماری می‌توانند مفید باشند، و یا شناسایی پروتئوم سلولها و بافتهای انسانی و نیز میکروارگانسیم‌هایی که با بیماریهای مختلف در ارتباط هستند.
- ایجاد انگیزه‌ای برای همکاری میان دانشگاهها، مؤسسات و صنایع برای تسهیل در تبادل متخصصان و تکنولوژی‌های جدید
- اطلاع‌رسانی و معرفی سریع اکتشافات و تکنیک‌های نوین پروتئومیکس
- تسریع در آموزش‌های مقاطع تحصیلات تکمیلی در زمینه‌های مختلف پروتئومیکس و ژنومیکس به منظور ایجاد مهارت‌های کافی در نسل جدید محققان پرتغالی در دوران پس‌ژنومی
- بالابردن میزان همکاری‌های ملی و بین‌المللی به وسیله ایجاد شبکه‌ای از مراکز تحقیقاتی پروتئومیکس

Italian Proteome Society (IPSO) –

انجمن پروتئوم ایتالیا (IPSO) به منظور هدایت تحقیقات پروتئوم در ایتالیا و نیز برقراری ارتباط با انجمن‌های پروتئومیکس در سایر کشورهای اروپا و جهان به وجود آمده است. از آنجا که پیشرفت در زمینه پروتئومیکس باید پیشرفتی در همه جوانب علوم مربوط به آن باشد، IPSO نیز یک انجمن با ویژگیهای بین‌رشته‌ای است. در حال حاضر IPSO اهداف زیر را در دستور کار دارد:

- ایجاد چند آزمایشگاه تخصصی پروتئومیکس به منظور آموزش دائم دانشجویان تحصیلات تکمیلی. این آزمایشگاهها قرار است با تجهیزات الکتروفورز دوبعدی، طیف‌سنجی جرمی و نیز نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک تجهیز شوند.
- برقراری یک شبکه ارتباطی بین آزمایشگاههایی که موضوع تحقیقاتی مشابهی دارند به منظور ایجاد مراکز پژوهشی بزرگتر در صورت امکان
- ایجاد محلی برای بیان آزادانه نظرات و راهکارها

British Society for Proteome Research –

انجمن تحقیقات پروتئوم بریتانیا (BSPR) که سابقاً انجمن الکتروفورز بریتانیا نامیده می‌شده است به صورت یک انجمن خیریه (Charity) فعالیت می‌کند. هدف این مؤسسه پیشبرد علم پروتئومیکس، افزایش آموزش‌های عمومی و نیز کمک به مطالعات و تحقیقات سودمند مرتبط با پروتئومیکس است.

Proteomic Section of the Czech Society for Biochemistry and Molecular Biology –

بخش پروتئومیکس انجمن بیوشیمی و زیست‌شناسی مولکولی جمهوری چک (PS CSBMB) در سال ۲۰۰۳ ایجاد شده است. این بخش، دانشمندان و سایر علاقه‌مندان را سازمان‌دهی می‌کند تا آگاهی‌های عمومی دربارهٔ تحقیقات، آموزش و کاربردهای پروتئومیکس افزایش یابد. اهداف این بخش عبارتند از:

۱- ساماندهی فعالیتهای پروتئومیکس در زمینه‌های زیست‌شناسی سیستم‌ها و پزشکی در جمهوری چک

۲- تبادل اطلاعات و برگزاری نشست‌ها و کنگره‌های پروتئومیکس

۳- معرفی جامعه محققین پروتئومیکس چک در نهادهای بین‌المللی پروتئومیکس

The Netherlands Proteomics Platform –

این انجمن در اواخر سال ۲۰۰۰ در هلند ایجاد شد. هدف این انجمن افزایش تبادل اطلاعات و دانش پروتئومیکس میان گروه‌های تحقیقاتی آلمانی‌زبان می‌باشد. اعضای این انجمن که از آزمایشگاه‌های مختلف وابسته به دولت، دانشگاه و صنعت بودند، در سال ۲۰۰۱ تصمیم گرفتند به عنوان یکی از گروه‌های کاری در انجمن بیوشیمی و زیست‌شناسی مولکولی آلمانی (**Deutch Society for Biochemistry and Molecular Biology**) به فعالیت ادامه دهند.

این انجمن در حال حاضر به منظور تبادل اطلاعات سمینارهای دوسالانه برگزار می‌کند.

European Proteomics Association (EUPA) –

در ابتدای ششمین کنگره پروتئومیکس در سیه‌نا (۲۰۰۴)، نمایندگان انجمن‌های پروتئومیکس از ۱۲ کشور اروپایی با برگزاری نشست‌ی ایجاد **European Proteome Organisation (EUPO)** را اعلام کردند. انگیزه ایجاد این سازمان، اراده مشترک انجمن‌های ملی کشورهای اروپایی برای همراستا کردن نیروها و رسیدن به «جرم بحرانی» لازم برای پیشبرد اهداف علمی آنها از طریق افزایش امکانات قابل دسترس برای اعضا بوده است. از جمله اهداف اولیه **EUPO** می‌توان به گسترش فعالیت‌های پروتئومیکس در اروپا و نیز معرفی روش‌های پروتئومیکس در زمینه‌های مختلف تحقیقات زیست‌شناسی به محققان، صاحبان صنایع، سیاستمداران و مردم اشاره نمود. همچنین این انجمن در تبادل اطلاعات علمی در همه زمینه‌های علوم زیستی و نیز در پیشگیری از انجام فعالیت‌های پژوهشی یکسان در مراکز مختلف پروتئومیکس نقش ایفا می‌کند.

در سال ۲۰۰۵ این مرکز به **European Proteomics Association (EUPA)** تغییر نام داد. در حال حاضر اعضای **EUPA** عبارتند از: اتریش، جمهوری چک، دانمارک، انگلستان، فنلاند، فرانسه، آلمان، یونان، هلند، مجارستان، ایتالیا، نروژ، اسپانیا، سوئد، سوئیس و پرتغال.

Hellenic Proteomics Society –

انجمن پروتئومیکس یونان (**HPS**) از جمله انجمن‌های پروتئومیکس اروپاست که سالیانه سمینارها و کارگاه‌های آموزشی مختلفی در زمینه پروتئومیکس برگزار می‌کند.

French Society of Electrophoresis and Proteomic Analysis (SFEAP) –

هدف این انجمن تشویق و حمایت از ایجاد تکنیک‌ها و روش‌های جدیدی است که بر پایه الکتروفورز و سایر روش‌های جداسازی پروتئین‌ها و دیگر مولکولهای زیستی هستند. محل این انجمن شهر پاریس است. این انجمن نشست‌ها و گردهمایی‌های سالانه نیز برگزار می‌نماید.

The International Council of Electrophoresis Societies (ICES) –

این انجمن، مجموعه‌ای از انجمن‌های ملی الکتروفورز را در سراسر جهان شامل می‌شود. این انجمن غیرسازماندهی شده است و بودجه و دفتر مرکزی ندارد. مهمترین هدف **ICES** سازمان‌دهی یک کنفرانس دوسالانه است.

از لحاظ تاریخی، انجمن الکتروفورز (**The Electrophoresis Society**) یک انجمن بین‌المللی بوده است که هر دو سال یکبار نشست‌هایی برگزار می‌کرده است. بعدها به خاطر کاربردهای وسیع الکتروفورز (علی‌الخصوص الکتروفورز دوبعدی) و اهمیت ویژه‌ای که در علوم زیستی پیدا کرد پیشنهاد شد که در کشورهای مختلف انجمن‌های ملی الکتروفورز تشکیل شود تا تبادل اطلاعات بهتر انجام شود. با فاصله کوتاهی از تشکیل این انجمن‌ها، سمینارهای سالانه‌ای شکل گرفتند و بدین ترتیب انجمن‌های ملی بخشی از وظایف انجمن الکتروفورز را برعهده گرفتند.

اهداف **ICES** با اهداف انجمن‌های ملی الکتروفورز تفاوت چندانی ندارد، به غیر از آنکه **ICES** هدایت این انجمن‌ها و تبادل اطلاعات را درمقیاس بین‌المللی انجام می‌دهد.

– سایر انجمن‌ها

در بسیاری از کشورهای دیگر انجمن‌های پروتئومیکس وجود دارند و یا درحال تشکیل هستند. درعین حال با توجه به تمایل شدیدی که برای استفاده از تکنیک‌های پروتئومیکس به وجود آمده است بسیاری از انجمن‌های الکتروفورز، جداسازی و نیز انجمن‌های طیف سنجی جرمی گسترش پروتئومیکس را نیز به عنوان یکی از اهداف خود درنظر می‌گیرند.

دورنمای پروتئومیکس

دورنمای پروتئومیکس

با ورود علم به قرن ۲۱ ابزارها و روشهای مورد استفاده در تحقیقات زیست‌شناسی سلولی در تحول مولکولی پدید آمده توسط ژنومیکس و پروتئومیکس نقش مهمی را ایفا خواهند کرد. بطور کلی می‌توان دورنمای پروتئومیکس را هدایت به سوی «پروتئومیکس عملکردی» (Functional Proteomics) عنوان نمود. ولی قبل از رسیدن به چنین هدفی، اصلاح و بهینه‌سازی تکنولوژیهای موجود پروتئومیکس ضروری می‌باشد. روش‌های آماده-سازی نمونه، جداسازی و آشکارسازی پروتئین‌ها (خصوصاً جهت شناسایی یا دست‌ورزی در مخلوطهای پیچیده پروتئینی) و روشها و ابزارهای مورد نیاز برای آنالیز داده‌های پیچیده، باید اصلاح و تکمیل گردند. سطح حساسیت در مطالعات پروتئوم باید به حدی برسد که با تکنیک‌های ژنتیکی جهت مطالعه پروتئین‌های کم‌مقدار، قابل مقایسه باشد. ارتباط با تکنیک‌های آنالیز پروتئین و نرم‌افزارها به منظور کار با داده‌ها برای تکمیل روشهای پروتئومیکس از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

استراتژی عمومی پروتئومیکس استفاده از الکتروفورز دوبعدی برای جداسازی پروتئین‌ها و آنالیز جرمی جهت شناسایی قطعات پروتئینی می‌باشد. از برخی انواع کروماتوگرافی چندبعدی می‌توان به عنوان جایگزین 2DE در مرحله جداسازی استفاده کرد. میانکنش پروتئین‌ها با بسترهای کروماتوگرافی پیچیده و در انواع بسترها، متفاوت می‌باشد. آنچه استفاده از کروماتوگرافی را به برخی کاربردهای خاص محدود می‌نماید، نیاز به زمان طولانی برای جداسازی و انجام‌شدن بصورت سریالی می‌باشد.

2DE ظرفیت جداسازی چندین هزار پروتئین بر روی یک ژل را دارا می‌باشد. ابزارهای سنتی الکتروفورز در حال حاضر کند و پرهزینه بوده و نیاز پروتئومیکس به ابزارهای جداسازی جدید را ضروری می‌نمایند. الکتروفورز دوبعدی روی «تراشه‌های ریزسیال»^۱ امکان مینیاتوریزه کردن جداسازی و اجرای موازی آن برای چندین نمونه را فراهم می‌کند.

^۱: Microfluidic Chips

اگرچه کاربرد تراشه‌ها به خوبی با آنالیز الیگونوکلئوتیدها سازگاری پیدا کرده است ولی کاربرد آن برای پروتئین‌ها هنوز گسترش نیافته و مطالعات پروتئینی در دست انجام می‌باشند. در این میان از جمله چالش‌های مطرح توسعه نسخه پروتئینی تکنولوژی تراشه **DNA** می‌باشد. چرا که در اینجا یافتن مولکولی با قابلیت اتصال به پروتئین مورد نظر به سادگی یافتن یک تکرشته **DNA** مکمل نیست. در آینده احتمالاً محققان شاهد گسترش کاربرد تراشه‌هایی خواهند بود که بتوانند به طور اختصاصی به انواعی از پروتئین‌ها متصل شده و حتی با وجود فراوانی ناچیز برخی پروتئین‌ها بتوانند ماهیت آنها را به طور دقیق شناسایی کنند.

تمرکز بر بخشی از پروتئوم به جای کل آن، پروژه‌های پروتئوم را کارتر خواهد نمود. اتصال تمایلی پروتئین‌ها نیز از جمله روش‌های مورد توجه برای غربالگری و شناسایی پروتئین‌ها در نمونه‌های تفکیک‌نشده می‌باشد. روش **SELDI** برای آنالیز پروتئین‌های قابل اتصال به لیگاندی خاص توسط طیف‌سنجی جرمی مناسب می‌باشد

بسیاری از نمونه‌ها مخلوطی از انواع مختلف سلولها می‌باشند و ابزارهای موجود، جداسازی را بصورت تقریبی و ناکارآمد انجام می‌دهند. یک ابزار امیدوارکننده برای آماده سازی نمونه باید در سطح یک سلول کارآمد باشد. تکنولوژی «ریزبرش لیزری» قادر به جداسازی سلولهای منفرد از یک برش میکروسکوپی می‌باشد. دو تکنولوژی لیزری برای به دام انداختن سلولها بکار می‌رود. در «ریزبرش و ربایش لیزری»، یک فیلم پلاستیکی، بافت قرارداده- شده بر روی صفحه میکروسکوپی را می‌پوشاند و سپس در اثر حرارت حاصل از برخورد یک پرتوی لیزر بخشهایی از بافت با فیلم ذوب و همراه آن خارج می‌شوند و بقیه روی صفحه می‌مانند. تکنولوژی پرتاب کننده فشاری- لیزری از فشار بالای فتونی پرتوی متمرکز لیزر برای انتخاب نمونه از بافت هدف و پرتاب آن به سوی یک سرپوش استفاده می‌کند. کاربرد این روشها در کار با بافتهای سرطانی نشان داده شده است و پتانسیل آن در مطالعات پروتئوم امیدوارکننده می‌باشد.

از دیگر چالش‌های فراروی پروتئومیکس، مطالعه پروتئین‌های کم‌تعداد می‌باشد. دسته‌های بسیاری از پروتئین‌ها مانند فاکتورهای رونویسی و بسیاری آنزیم‌ها در تعداد پایین تکثیر می‌شوند. این پروتئین‌ها معمولاً روی **2DE** آشکار نمی‌گردند مگر آنکه تغلیظ و یا به طور نسبی خالص شوند. بنابراین توسعه تکنیک‌های با قدرت تفکیک بالا ضروری می‌باشد. هرگونه بررسی پروتئوم یک سلول یا موجود، مانند عکس‌برداری از فعالیت آن در یک نقطه

زمانی می‌باشد. در نتیجه ممکن است نسبت به آنچه طی زمان رخ می‌دهد، ایجاد اشتباه نماید. پیش‌بینی می‌شود که پروتئومیکس در آینده بر پروتئومیکس **real-time** متمرکز شود که اطلاعات مربوط به رفتار پروتئین‌ها در طول زمان را بهبود خواهد بخشید. هرچند تکنیک‌های طیف‌سنجی جرمی امروزه نسبت به گذشته حساس‌تر، سریع‌تر و تکرارپذیرتر گشته است، اما قدرت تفکیک **2DE** از زمان ابداع تاکنون چندان دستخوش تغییر قرار نگرفته است. اخیراً یک روش ترکیبی برای بررسی کمی الگوهای بیان پروتئین‌ها بکارگرفته می‌شود که مشتمل بر برچسب‌گذاری شیمیایی پروتئین‌ها با استفاده از واکنشگرهای **ICAT**، جداسازی با کروماتوگرافی چندبعدی و آنالیز باطیف‌سنجی جرمی متوالی به همراه جستجوی اتوماتیک پایگاه داده توالی می‌باشد. این روش قدرتمند، دستیابی به الگوی بیان ژنها را در ابعاد و سرعتی که پیش از این با استفاده از روش‌های سنتی متکی به الکتروفورز دوبعدی ممکن نبود، میسر ساخته است. نسل دوم روشهای وابسته به واکنشگرهای **ICAT** با به‌کارگیری طیف‌سنجی جرمی **MALDI**- چهارقطبی و نرم‌افزارهای جدید قادرند پروتئین‌هایی را که در سیستم، سطح بیان متفاوتی نشان می‌دهند به سرعت و به صورت انتخابی شناسایی نمایند. امید می‌رود که این روش شناسایی وابسته به فراوانی، هم بتواند توان آنالیز در مقیاسهای بالاتر را فراهم کند و هم بر تعداد پروتئین‌های شناسایی شده دارای اهمیت زیستی زیاد بیفزاید. همان‌طور که پیش از این ذکر شد، تکنولوژی ریزآرایه-آنتی‌بادی به عنوان یک ابزار پروتئومیکس برای تهیه الگوی بیان پروتئین‌ها در نمونه‌های زیستی به کار می‌رود. امروزه تلاش می‌شود با استفاده از نشان‌دارکردن نمونه‌های زیستی با رنگهای دوگانه و آشکارسازی فلورسانس حاصل از اتصال آنها به حدود ۴۰۰ آنتی‌بادی منوکلونال، بتوان تغییر در میزان بیان و در نتیجه فعالیت شیمیایی پروتئین‌ها را دنبال کرد. از آنجا که مقیاس‌گذاری و کمی‌سازی این سیستم به خوبی قابل انجام است، می‌تواند به عنوان ابزاری برای زیست‌شناسی سلولی و تحقیقات پروتئومیکس مورد استفاده واقع شود. تحولات اخیر و پتانسیل‌های پیش‌بینی شده از کاربرد تکنولوژی پروتئومیکس در زمینه‌های مختلف و نیز امکان پاسخ به سؤالات زیستی، دورنمای آنرا روشن و امیدبخش نموده است. پروتئومیکس بالینی از جمله زمینه‌هایی است که در بخش‌های گوناگون آن، شامل تشخیص اولیه بیماری با استفاده از الگوهای پروتئومیکس نمونه‌های مایعات بدن، تشخیص برپایه علائم پروتئومیکسی به عنوان مکمل آسیب‌شناسی بافت، انتخاب اختصاصی ترکیبات درمانی که کل شبکه پروتئینی اختصاصی بیماری فرد را مورد هدف قرار می‌دهد، بررسی و پیگیری تأثیرات درمانی

و اثرات سمی درمان همزمان با انجام آن، اعمال تغییرات در نوع درمان برحسب تغییرات شبکه پروتئینی در مراحل مختلف بیماری که به طور معمول به مقاومت در برابر آن منجر می‌شوند، اثر مستقیم این تحولات دیده می‌شود.

کاربرد تکنولوژی‌های پروتئومیکس و داده‌های ژنومیکس درمورد بافتها و سلولهای انسانی بیمار می‌تواند برای یافتن و سنجش خانواده‌های پروتئینی جدید به عنوان هدفهای دارویی مناسب در توسعه داروهای جدید بکار رود. برای مثال، محققان دریک پروژه کوتاه‌مدت با بهینه کردن رسوب‌دهی ایمونولوژیکی^۱ و طیف‌سنجی جرمی توانسته‌اند میانکنش‌های پروتئینی حدود ۲۵٪ پروتئوم مخمر را تعیین کنند. این شیوه همچنین برای سلولهای انسانی با هدف دستیابی به هدفهای دارویی جدید مستقیماً بکار می‌رود.

یکی از دستاوردهایی که از نقشه‌های عملکردی پروتئین‌های سلولی مورد انتظار و در دست بررسی می‌باشد، تهیه رده‌های سلولی مدل خصوصاً برای سلولهای سرطانی می‌باشد که صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی آنها را بروز دهند. با این روش توانسته‌اند پروتئین‌های سطح سلولی جدیدی را که با روشهای فعلی قابل تشخیص نبوده‌اند شناسایی نمایند، که این نیز می‌تواند مسیری برای یافتن هدفهای دارویی جدید در تیمار سلولهای بیمار و خصوصاً سرطانی باشد.

امروزه تعداد کثیری از ترکیبات آلی کوچک در دسترس هستند که می‌توانند به عنوان ترکیب سرمشق در غربالگری و جستجو به دنبال یافتن داروهای جدید به کار روند. به تبع این امر روش‌های متعددی نیز برای دسته‌بندی شباهت و تنوع مولکولی ترکیبات در کتابخانه‌های مولکول‌های کوچک، که ممکن است برای ارزیابی آسانتر کمیت و کیفیت ویژگیهای دارویی آنها بکار روند، پیشنهاد شده‌اند. درحالی که ویژگیهای ساختاری و فیزیکیوشیمیایی در این غربالگری برای سرمشق دارویی مورد توجه و تاکید می‌باشند، کمپروتئومیکس (استفاده از اطلاعات بیولوژیکی برای هدایت شیمیایی؛ **Chemoproteomics**) روشی جایگزین و کارآمد را جهت شتاب‌دادن به فرایند یافتن دارو پیشنهاد می‌کند.

از آنجا که اثر انگشت‌های تمایلی به لحاظ دارویی توصیف‌گرهای مناسبی هستند و مکمل توصیف‌گرهای وابسته به ساختار می‌باشند به عنوان اساس شیوه کمپروتئومیکسی برای شناسایی ترکیب سرمشق یا به بیان دیگر

^۱: Immunoprecipitation

روش الگویابی تمایلی وابسته به هدف (TRAP)¹ بکار می‌روند. در واقع این اثرانگشت‌های تمایلی راهنمای خوبی برای جستجوی ترکیب سرمشق می‌باشند و می‌توان مولکولهای کوچک فعال زیستی را که در غلظتهای پایین نیز به هدف، تمایل نشان می‌دهند به سرعت شناسایی کرد. این شیوه، کارایی روشهای یافتن سرمشق و در نتیجه اهداف دارویی جدید را به شدت افزایش داده است.

امروزه یافتن بیومارکرهای جایگزین برای آن دسته از بیماریها که تاکنون درمان موفقی برای آنها یافت نشده، در زمره اهداف مورد توجه صنایع دارویی قرار گرفته است. اگر بتوان پروتئینی را در خون یافت که حضور یا افزایش غلظت آن نشانه‌ای از پیشروی بیماری باشد می‌توان تحقیقات کلینیکی را در این بیماری هرچه بهتر هدایت نمود. تحقیقات کلینیکی معمولاً آنقدر هزینه‌بر هستند که تنها تکنولوژیهای ریسک آنها را می‌پذیرند که ارزش اقتصادی آنها بسیار قابل توجه باشد. بنابراین تعجبی نخواهد داشت که پروتئومیکس دارویی، عمده توجه خود را معطوف توسعه تکنولوژی بیومارکرهای جایگزین بنماید. ولی فراتر از این، کوتاه کردن زمان لازم برای آزمایش این بیماریها و در نتیجه قادر بودن به انجام تعداد بیشتری از آنها، گام مهمی در رسیدن به هدف «توسعه و بهبود زندگی بشر» خواهد بود.

انجام NMR با قدرت تفکیک بالا از مایعات بدن به عنوان روشی برای تعیین غلظت متابولیت‌های مختلف پیشنهاد شده است. این شیوه متابولومیکی قادر است بیماریهای متابولیکی را براساس نمونه‌های ادرار تشخیص دهد، و همچنین می‌توان آسیب‌های متابولیکی و انحراف از وضع طبیعی را نیز شناسایی کرد.

با نگاهی دقیق‌تر می‌توان دریافت که روش‌های متعددی برای فهم رفتار پیچیده سیستم‌های زیستی مورد نیازند؛ به بیان دیگر، محققان در آینده شاهد همکاری مجموعه‌ای از ژنومیکس، پروتئومیکس، بیوانفورماتیک و بسیاری دیگر از تکنولوژیهای جدید (و حتی آنهایی که امروزه نامی هم به آنها اختصاص داده نشده) خواهند بود.

علاوه بر پزشکی، عرصه‌های دیگری از علم نیز تحت تأثیر پروتئومیکس قرار گرفته‌اند چرا که آنالیز پروتئین‌ها در مقیاس وسیع و عمومی صورت می‌گیرد و انتظار می‌رود اثر مستقیم آن بر درک عملکرد و فرایندهای تنظیم بیش از آنچه از آنالیز ژنوم حاصل شود مشهود باشد. به عنوان مثال می‌توان به مطالعه فیزیولوژی موجودات الیگوتروف

¹: Target-Related Affinity Profiling

مدل اشاره کرد که وقتی توالی ژنومی آنها بدست می‌آید نه تنها ژنهای مختص یک گونه در دست است بلکه به شناخت ساختارها و مسیرهای متابولیسمی مشترک با دیگر هتروتروفها نیز کمک خواهد کرد. این داده‌ها نقش مهمی را در ژنومیکس مقایسه‌ای و مطالعات عملکردی ایفا خواهند نمود. چنین آنالیزهایی در پاسخ به سؤالات اکولوژیکی مهم هستند. آگاهی جامعی از متابولیسم امکان مطالعات منطقی *in situ* و مدل‌سازی محیطی (مانند بازدهی زیستی و سرعت دگرگونی مواد مغذی) را فراهم می‌کند و ترکیبی از اطلاعات فیزیولوژیکی و مارکرهای ژنتیکی، سنجش اکولوژیکی مارکرهای سلولی و نیز مدل‌سازی ریاضی آنرا میسر می‌سازد. همچنین، تعیین کامل توالی ژنومی و اجزای پروتئوم دریچه‌ای به سوی مکانیزم‌های حفظ انرژی و نقش سویه‌های مرتبط در چرخه غذایی در اکوسیستم‌های الگوتروفیک می‌گشاید.

در حالی که دانستن پاسخ میکروبی به آنتی‌بیوتیکها در فرایند درمان بسیار ضروری می‌باشد، پروتئومیکس بهترین روش برای رسیدن به آن است. در آینده‌ای نزدیک پروتئومیکس به روشی استاندارد برای آنالیز فنوتیپ جهش‌یافته‌ها و یافتن هدفهایی برای آنتی‌بیوتیکهای جدید تبدیل خواهد شد. در بیوتکنولوژی کاربرد سویه‌های جهش‌یافته در کنترل زیستی^۱ و پاک‌سازی زیستی^۲ و غیره خواهد بود. باید بتوان میزان خطر بالقوه این جهش‌یافته‌ها را پیش‌بینی کرد، که پروتئومیکس به همراه تکنولوژی‌های تکمیلی مانند ریزآرایه و متابولومیکس، در ایفای چنین نقشی می‌تواند کارآمد باشد. با چنین شیوه‌های ترکیبی، باید بتوان پروتئین‌ها را به متابولیت‌هایشان مرتبط کرد و یا به عبارت دیگر آنزیم‌های دخیل در سنتز ترکیبات متابولیسمی خاص مانند یک آنتی‌بیوتیک شناخته خواهند شد.

^۱: Biocontrol

^۲: Bioremediation