مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال پنجم، شماره چهارم، پیاپی بیستم، بهار ۱۳۹۶ (۵۸-۴۹)

بررسی تفصیلی در خصوص کاربرد طیف‌سنجی جرمی در زیست شناسی مولکولی

محمد قنبری[1*]، حسین وش[2]، علی قنبری[3]
۱. کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۲. کارشناس رشته کتابداری و اطلاع‌رسانی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
۳. کارشناس شیمی کاربردی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی اراک
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۹ – تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۲/۱۶)

چکیده
طیف‌سنجی جرمی یکی از تکنیک‌های بسیار قوی برای شناسایی مواد است. این تکنیک با تعیین دقیق جرم مواد باعث شناسایی آنها می‌شود. روش‌های یونیزاسیون نرم نقش کلیدی در ورود این تکنیک به عرصه زیست‌شناسی مولکولی و ساختاری داشته است، از آن برای شناسایی مولکول‌های زیستی استفاده شد. هدف اصلی و کلی این تحقیق معرفی اسپکترومتری جرمی به عنوان یک ابزار تحقیقاتی مهم در زیست‌شناسی مولکولی و همچنین معرفی کاربردهای مختلف این تکنیک و نیز ارائه چند مثال کاربردی در این حوزه می‌باشد. روش مورد بررسی در این مقاله از نوع کتابخانه‌ای، بوده و بر مبنای مقالات انجام شده در چند دهه گذشته صورت گرفته است. مقالات لاتین مرتبط با موضوع، مورد بررسی قرار گرفته به نتیجه‌گیری کلی از آنها پرداخته شده است. روش‌های طیف‌سنجی جرمی فرصت ویژه‌ای را برای آنالیز اختصاصی مولکولی فراهم کرده‌اند. این روش تحول بزرگی در شناسایی مولکول‌های زیستی به‌وجود آورده است. مولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، الیگوساکاریدها و لیپیدها که بیوپلی‌مرهای اصلی موجودات زنده هستند، توسط این روش شناسایی و آنالیز شده‌اند، به همین دلیل مطالعه فرایندهای مولکولی سلول با این روش امکان‌پذیر شده است. دقت و حساسیت بالای طیف‌سنجی جرمی باعث توسعه و پیشرفت رشته‌های جدیدی مانند ژنومیکس، پروتئومیکس، لیپیدومیکس و متابولومیکس شده است. طیف‌سنجی جرمی در زیست‌شناسی مولکولی کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده و تحقیقات درزمینه پرتئومیکس با کمک طیف‌سنجی جرمی انجام می‌شود. این روش با شناسایی پروتئین‌ها و پپتیدها و نیز تعیین کمپلکس‌های مولکولی، نقش مؤثری در شناخت مکانیسم‌های عملکردی و مولکولی سلول داشته است.

واژه‌های کلیدی: پرتئومیکس، تشخیص، طیف‌سنجی جرمی، MALDI-TOF MS.

Detailed study of the application of mass spectrometry in molecular biology

Mohammad Ghanbari[1*], Hossein Vash[2], Ali Ghanbari[3]
1. M.Sc. Molecular and Cellular Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Bachelor of Medical Library and Information Science, shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran
3. Bachelor of Applied Chemistry, Faculty of Science, Arak Islamic Azad University
(Received: Mar. 29, 2014 - Accepted: May 6, 2017)

Abstract
Mass spectrometry is a one of the most powerful techniques for identify of materials. This techniquemakesthe materials to be identified with the accurate determination of their mass. With the discovery of soft ionization techniques, this technique was entered into the field of molecular biology. So it was used for the identification of biological molecules. The introduction of mass spectrometry as an important research tool in biology and medical science and the introduction of several applications of this technique in these two areas are the main goals of this study. The method that was used in this study is the type of library research and this study was conducted on the basis of published articles in the past few decades. Latin articles related to the topic studied and the conclusions of them have been investigated. Mass spectrometry methods provide a unique opportunity for molecular specific analyses. This method has created a great development in detecting biological molecules. The molecules such as proteins, nucleic acids, oligosaccharides and lipides which constitute a main biopolymers of organisms are identified and analyzed by this method. Therefore, the study of molecular processes of the cell is possible. The high sensitivity and accuracy of mass spectrometry makes the development of new fields such as genomics, proteomics, lipidomics and metabolomics. Mass spectrometry has been widely used in molecular biology and researches in the field of proteomics is performedwiththe help of mass spectrometry.This method has an effective role in the understanding of molecular and functional mechanisms of the cell with identification of proteins and peptides and also with determination of molecular complexes.

Keywords: Mass spectrometry, proteomics, identification, MALDI-TOF MS.

* نویسنده مسئول: E-mail: mohamadghanbari60@yahoo.com

مقدمه

با این که در سال‌های اخیر تمام توجهات به توالی ژنومی معتوف شده است، این دیدگاه به آسانی می‌تواند در مورد این حقیقت که ژن‌ها اطلاعات اولیه‌ای هستند، که واحدها را ذخیره می‌کنند نادیده گرفته شود. در حالی‌که پروتئین‌ها هماهنگ‌کننده فعالیت‌های سلول‌اند، و از آنها به‌عنوان ماشین مولکولی فرایندهای سلولی یاد می‌شود، و برای درک این فرایندها ابتدا باید پروتئین‌ها را شناسایی[1] کنیم، و برای این کار باید پروتئین‌ها را از هم جدا کرده، و به صورت جدا از هم ساختمان و عملکرد آنها را بررسی کرد. جداسازی و خالص‌سازی پروتئین‌ها کار بسیار سختی است، و قبلاً به‌وسیله روش‌های مرسومی چون کروماتوگرافی، ژل الکتروفورز، رسوب‌گذاری و روش‌های دیگر انجام می‌شد بعد از جداسازی نوبت به شناسایی می‌رسد که این کار از طریق روش لکه‌گذاری وسترن[2] و روش‌های ایمونولوژیکی صورت می‌گرفت (Grebe & Singh, 2011). نکته اصلی این است که این روش‌ها برای جداسازی و شناسایی پروتئین‌های شناخته شده، کاربرد دارند و نمی‌توانند پروتئین‌های جدید و ناشناخته را شناسایی کنند و بسیاری از پروتئین‌ها (حدود ۹۰ درصد) ناشناخته باقی مانده‌اند. با جایگزینی این روش‌ها با روش نوین پروتئومیکس کلاسیک، بسیاری از مشکلات مربوط به شناسایی پرتئین‌ها حل شده است (Michener *et al*., 2002; Posadas *et al*., 2005). این روش نوین قابل استفاده برای شناسایی هر نوع پروتئین جدیدی است و هیچ محدودیتی از این لحاظ ندارد. پرتئومیکس کلاسیک یک روش آنالیزی است که با به‌کارگیری دو تکنیک[3] SDS-PAGE و طیف‌سنجی جرمی[4] MALD-TOF می‌تواند چندین نوع پروتئین ناشناخته را در یک بار آزمایش و به‌طور خودکار و در کمترین زمان و با صرف کمترین هزینه و انرژی شناسایی کند (Sun *et al*., 2013; Chen *et al*., 2014). هر طیف سنج جرمی (شکل۱) شامل: یک منبع یونی[5] جهت ایجاد یون‌ها از نمونه، یک یا چند آنالیزور جرمی[6] جهت جداسازی یون‌ها براساس نسبت جرم به بار، یک آشکارساز[7] جهت ثبت تعداد یون‌های خارج شده، از آخرین آنالیزور و یک کامپیوتر جهت پردازش داده‌ها و ایجاد طیف و کنترل دستگاه می‌باشد (Glish & Vachet, 2003).

طیف‌سنجی جرمی بسیار حساس و دقیق است، همین مورد بازده آنالیزی این روش را در شناسایی پروتئین‌ها بالا برده است. پس طیف‌سنجی جرمی نقش کلیدی را در پروتئومیکس جهت شناسایی پروتئین‌ها بازی می‌کند (Wulfkuhle *et al*., 2003; Finehout & Lee, 2004). هدف اصلی و کلی این تحقیق معرفی روش طیف‌سنجی جرمی به عنوان یک ابزار تحقیقاتی مهم در زیست شناسی مولکولی و همچنین معرفی کاربردهای مختلف این تکنیک در این رشته می‌باشد.

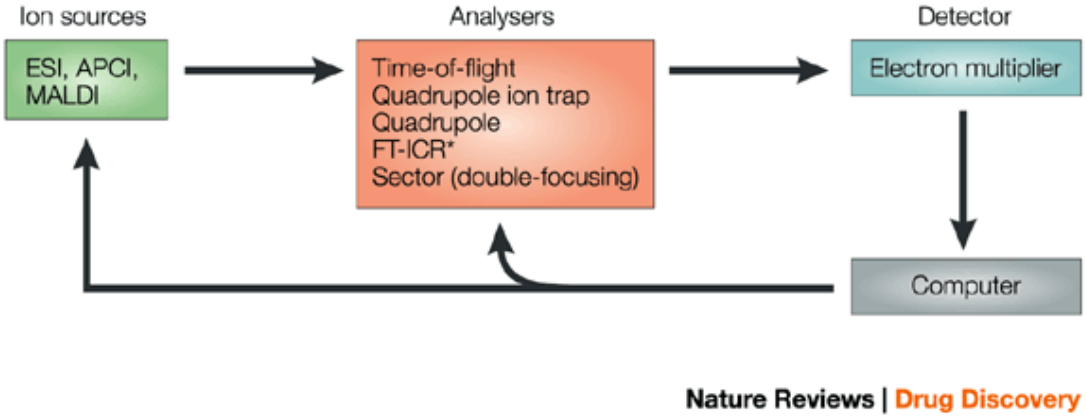
مواد و روش‌ها

روش مطالعه از نوع مروری و تحقیقات کتابخانه‌ای بوده، و به بررسی تحقیقات گذشته و نتیجه‌گیری کلی از آنها پرداخته شده است. جمع‌آوری اطلاعات از طریق پایگاه‌های اطلاعاتی صورت گرفته است، و از مقالات موجود در پایگاه‌هایی همچون Scupos، Pubmed و Web of science استفاده شده است. مطالب مرتبط با موضوع، از مقالات لاتین منتشرشده در این زمینه در چند

1. Identification
2. Western blotting
3. Sodium dodecylsulfate–polyacrylamide gel electrophoresis

4. Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight
5. Ionizationsource
6. Mass analyzer
7. Detector

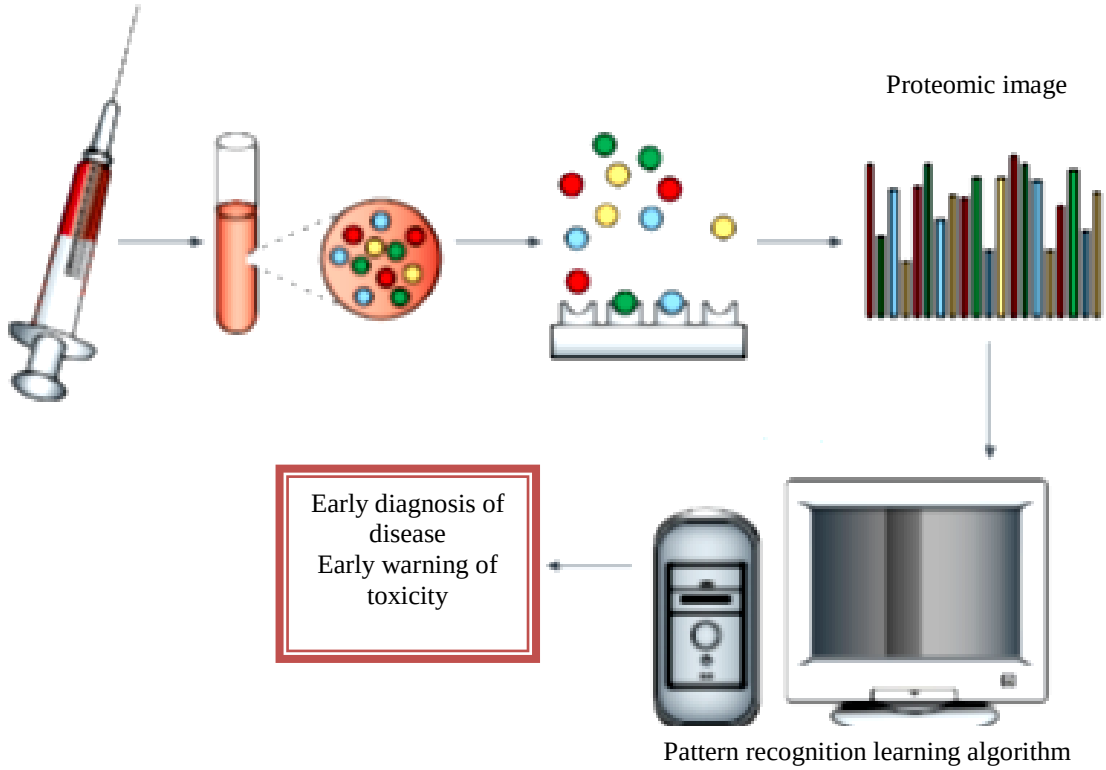
دهه گذشته جمع‌آوری شده است، و جستجوی مقالات از طریق کلید واژه‌هایی همچون اسپکترومتری جرمی، پروتئومیکس، الکتروفورز دو بعدی و دیگر واژه‌های مرتبط با موضوع مورد مطالعه صورت گرفت.



شکل ۱. اجزاء اصلی تشکیل‌دهنده یک طیف‌سنج جرمی (Glish & Vachet, 2003)

نتایج

اهمیت کنونی طیف‌سنجی جرمی در تحقیقات زیستی به‌واسطه دو جایزه نوبل شیمی که در سال (۲۰۰۲) به Koichi Tanaka و John B. Fenn اعطا شد، بیشتر نمایان شده است (Finehout & Lee, 2004). این روش امروزه به یکی از پرکاربردترین روش‌های آنالیتیکی در علوم زیستی تبدیل شده است. دانشمندان با کمک روش طیف‌سنجی جرمی فرایندهای مختلف مولکولی سلولی را مورد مطالعه قرار داده‌اند، و به نتایجی هم رسیده‌اند، فرایندهایی مثل ترمیم DNA، همانندسازی، پیام‌رسانی بیولوژیکی و تنظیم بیان ژن که مباحث اصلی علم زیست‌شناسی مولکولی را تشکیل می‌دهند. طیف وسیعی از مولکول‌های زیستی (که در فرایندهای یادشده نقش دارند) از جمله پپتیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، الیگوساکاریدها و لیپیدها با روش طیف‌سنجی جرمی مورد آنالیز قرار گرفته‌اند، که در ادامه به برخی از آنها اشاره خواهد شد. از جمله مباحث مهمی که در زیست‌شناسی مولکولی مطرح می‌باشد، و تحقیقات گسترده‌ای روی آن صورت گرفته است، شناسایی تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌ها می‌باشد، و طیف‌سنجی جرمی توانایی آنالیز این تغییرات را دارد. تغییرات پس از ترجمه نقش زیادی در پیامدهی و عملکرد یک سلول دارند، بیش از ۲۰۰ نوع از این تغییرات بر روی پروتئین‌های مختلف شناسایی شده، که از مهمترین آنها فسفوریلاسیون، استیلاسیون، گلیکوزیلاسیون، نیتراسیون، یوبیکوئیتیناسیون را می‌توان نام برد. این روش همچنین کاربردهای بسیار گسترده‌ای در پروتئومیکس، ژنومیکس، متابولومیکس و لیپیدومیکس پیدا کرده است (Kelleher, 2013; Liesenfeld *et al.*, 2013). طیف‌سنجی جرمی در میکروبیولوژی برای شناسایی میکروارگانیسم‌هایی مثل باکتری و قارچ مورد استفاده قرار گرفته است، امروزه نامگذاری و طبقه‌بندی صحیح گونه‌ها و زیرگونه‌های مختلف میکروبی بر اساس داده‌های حاصل از طیف‌سنجی جرمی صورت می‌گیرد. شناسایی گونه‌های میکروبی با این رویه نسبت به روش‌های بیوشیمیایی سریع‌تر، دقیق‌تر و با صرفه‌تر است (Sauer & Kliem, 2010). آنالیز پروتئین‌ها اولین قدم در فرایندهای تجزیه‌ای است، که برای تعیین مشخصات سلول‌ها، ارتباطات فیزیو لوژیکی، بیماری‌ها و دیگر جنبه‌های بیولوژیکی و بیوداروی بافت‌ها به‌کار می‌رود (شکل ۲).



شکل ۲. شماتیک فرایند شناسایی الگوی پروتئومیک، نمونه سرم از بیمار گرفته شده، و سپس پروتئین‌های موجود در سرم به سطح تراشه اتصال یافته‌اند، در مرحله بعد طیف‌سنجی جرمی برای به‌دست آوردن تصویر پروتئومیک نمونه‌ها که با ابزارهای بیوانفورماتیک قابل خواندن می‌باشد، انجام شده است، که نتیجتاً داده‌های حاصل منجر به تشخیص زود هنگام و پیش‌آگهی بیماری‌ها می‌شود (Wulfkuhle *et al*., 2003).

تصویربرداری سه بعدی[1] از مولکول‌های لیپیدی مربوط به پلاک‌های آترو اسکلروتیک[2] کاروتید انسان[3] و سینوس آئورتیک موش[4] با روش طیف‌سنجی جرمی اخیراً انجام شده است. این تکنولوژی جدید که قدرت تفسیر و کیفیت ظاهرسازی بالایی، دارد قادر به بازسازی تصویر سه بعدی مولکول است. با این ویژگی، مجموعه‌ای از اطلاعات چندگانه در مورد هر نمونه فراهم شده، و می‌توان اطلاعات جداگانه مربوط به مولکول‌ها را به هم مرتبط کرد (Patterson *et al*., 2016). بسیاری از کمپلکس‌های مولکولی و پروتئینی سلول به صورت هتروژن و دینامیک بوده، و با روش‌های کریستالوگرافی اشعه X و NMR قابل مطالعه نیستند، اما تکنیک‌های جدید طیف‌سنجی جرمی، اطلاعات و داده‌های مربوط به میانکنش‌های مولکولی، استوکیومتری، اتصال و محدودیت‌های فضایی کمپلکس‌های مولکولی بکر یا دست‌نخورده سلول را فراهم کرده‌اند. همچنین این روش‌ها برای آشکارسازی درجات بالاتر ساختمانی پروتئین استفاده شده‌اند (Faini *et al*., 2016; Chait *et al*., 2016). اخیرا یکی از تکنیک‌های جدید طیف‌سنجی جرمی با استفاده از منبع یونیزاسیون با فشار اتمسفری جدید[5] (UniSpray) برای مطالعه پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها[6] (واسطه‌های سیستم ایمنی) به‌کار رفته است. این روش در مقایسه با تکنیک یونیزاسیون الکترو اسپری (ESI) دقت و حساسیت بالاتری داشته

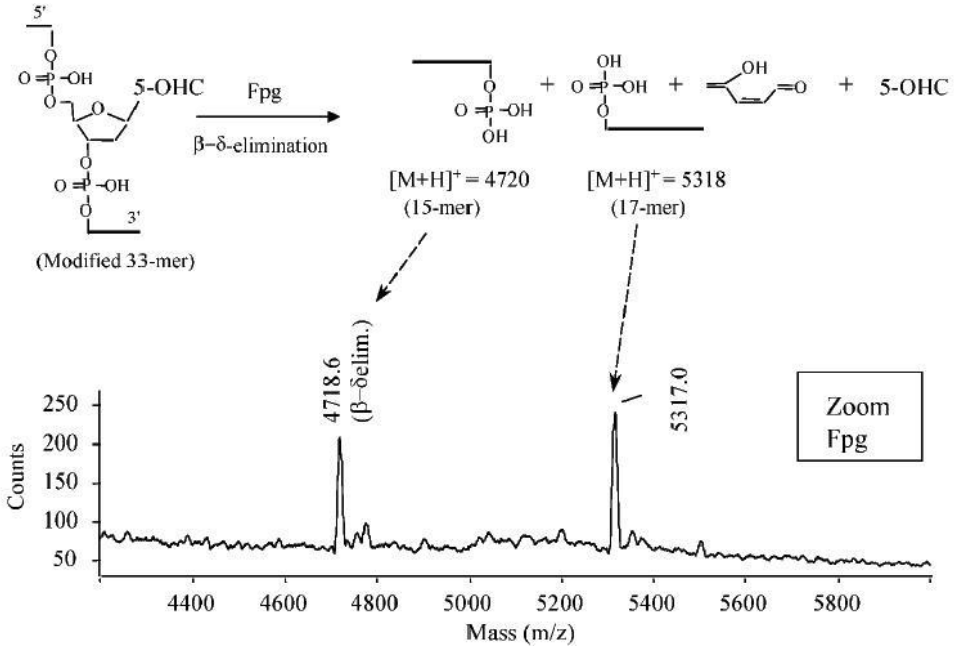
1. 3D imaging mass spectrometry
2. Atherosclerotic plaques
3. Human carotid
4. Mouse aortic sinuses
5. New atmospheric pressure ionization source (UniSpray)
6. Prostaglandins and thromboxanes

و کارایی و نتایج بهتری را در مطالعه ماتریکس‌های مختلف مانند پلاسمای انسان، کولون موش و کولون خوک داشته است (Lubin *et al*., 2016).

با روش طیف‌سنجی جرمی می‌توان نمونه‌هایی با جرم ۴۰۰۰ دالتون را با دقت ۰/۰۱٪ آنالیز نمود. اگر پپتیدهای موجود در یک نقطه حاصل از ژل الکتروفورز دو بعدی مورد آزمایش قرار گیرند می‌توان اطلاعات ترکیبی حاصل را با توالی ژنومی مرتبط نموده، و ژن کدکننده پروتئین را شناسایی کرد، و همچنین از ترتیب توالی آمینو اسیدی پپتیدها در تأیید توالی ژن پروتئین هضم‌شده، استفاده می‌شود. تعیین محلصحیح اتصال اگزون به اینترون، تعیین محل دقیق ژن، مسیرهای مختلف پیرایش متفاوت[1]، تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌ها و دیگر مکانیسم‌های مولکولی سلول آشکار می‌گردد (Link *et al*., 1997; Schulenborg *et al*., 2006; Lausted *et al*., 2014). این روش دقیق شناسایی پروتئین‌ها در مطالعه فرایندهای زیستی بسیار مفید واقع شده است. مثال رایج در این مورد مطالعه پایداری کروموزمی است که وابسته به ترمیم مؤثر آسیب‌های DNA می‌باشد (Carney *et al*., 1998). برای ترمیم آسیب‌های DNA چندین نوع سیستم آنزیمی وجود دارد. سندرم[2] (NBS) و بیماری آتاکسیا تلانژکتازیا[3] دو نوع ناهنجاری هستند، که علائم بالینی مشابهی دارند. مشخص شده است، که در هر دو نوع این ناهنجاری‌ها، سیستم‌های ترمیمی آسیب‌های DNA نقص هایی را دارند. دو نوع پروتئین به نام Rad50p و Mre11p در ترمیم آسیب‌های وارده بر DNA دو رشته‌ای نقش دارند. از طریق روش SDS-PAGE کمپلکس پروتئینی که متشکل از Rad50pو Mre11p می‌باشد جداسازی شده، و متعاقبا تحت آنالیز طیف‌سنجی جرمی قرار گرفت. آنالیز طیف علاوه بر دو پروتئین مذکور پروتئین دیگر ۹۵ کیلو دالتونی را آشکار کرد، که منجر به شناسایی ژن جدید شد. نقشه این ژن در لوکوس NBS تعیین شده، و یافته‌ها نشان دادند، که پروتئین کد شده توسط این ژن در آسیب DNA دو رشته‌ای به‌عنوان سنسور عمل می‌کند (Carney *et al*., 1998; Williams *et al*., 2009). باکمک طیف‌سنجی جرمی پروتئوم بسیاری از میکروارگانیسم‌ها مانند *Haemophilus influenza*، *Escherichiacoli* و *Saccharomyces cerevisiae* تعیین هویت شده است (Link *et al*., 1997). با اندازه‌گیری جرم قطعات DNA توسط روش طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF می‌توان توالی نوکلئوتیدی DNA را به‌دست آورد (Gao *et al*., 2013). همچنین می‌توان صحت توالی DNA را که با روش‌های توالی یابی تعیین توالی شده‌اند را تایید کرد (Fernández-Suárez & Galperin, 2012). بسیاری از جهش‌ها و پلی‌مورفسیم‌های تک نوکلئوتیدی[4] موجود در DNA را می‌توان با روش طیف‌سنجی جرمی مطالعه کرد (Lewis *et al*., 1998). با این روش می‌توان آلل‌های هموزیگوت و هتروزیگوت را از هم باز شناخت (Crain & McCloskey, 1998). آنالیز الیگونوکلئوتیدها به‌وسیله طیف‌سنجی جرمی کاربرد گسترده‌ای در مطالعه فرایندهای آنزیمی سلول پیدا کرده است، برای مثال در یک مطالعه مشخص شد، که طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF ابزار قدرتمندی برای مطالعه پردازش آنزیمی آسیب‌های وارد شده بر DNA می‌باشد. DNA سلول دائماً در معرض عوامل درونی و بیرونی آسیب‌زا می‌باشد، که این عوامل باعث درج آسیب‌هایی مانند الکیلاسیون، اکسیداسیون، دآمیناسیون، هیدرولیز و اتصالات متقاطع

1. Alternative splicing
2. Nijmegen breakage syndrome
3. Ataxia telangiectasia
4. Single-nucleotide polymorphism (SNP)

در DNA می‌شوند. این آسیب‌ها که باعث ایجاد طیف زیادی از بیماری‌ها از جمله سرطان می‌شوند با عملکرد آنزیم‌های ترمیمی مثل DNA–گلیکوزیلازها یا اگزونوکلئازها ترمیم می‌شوند. جهت مطالعه مکانیسم ترمیم این آسیب‌ها از طریق روش طیف‌سنجی جرمی، یک سری قطعات الیگو دئوکسی نوکلئوتیدی که دارای نوکلئوتید تغییریافته در جایگاه اختصاصی‌اند، به عنوان سوبسترا یا کاوشگر مورد استفاده واقع شدند (Butenandt *et al*., 1999). این قطعات DNA سنتزی که حاوی نوکلئو بازهای آسیب دیده بودند، تحت تجزیه نسبی توسط اگزونوکلئازها قرار گرفته، و قطعات حاصل از هضم با طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF مورد آنالیز قرار گرفتند. این روش با تعیین توالی نوکلئوتیدی کامل قطعات موقعیت و صحت وجود باز تغییر یافته را در الیگومر DNA تایید می‌کند (Bourdat *et al*., 1999). نتایج آنالیز نشان داد که تعدادی از آسیب‌ها نسبت به هضم آنزیمی مقاومند، و این باعث می شود که پلی‌مراز در خواندن توالی نوکلئوتیدی دچار اشتباه شده، و جهش ایجاد شود. همچنین می‌توان از طریق روش طیف‌سنجی جرمی و با استفاده از قطعات DNA سنتزی (ODNs) که حاوی نوکلئو بازهای آسیب‌دیده بودند، مکانیسم عملکردی و اختصاصیت آنزیم‌های (DNA-N-glycosylases) را در ترمیم نوکلئوبازهای آسیب‌دیده نقشه‌برداری کرد. این آنزیم‌ها در ماشین ترمیم DNA با عملکرد خروج بازی در ترمیم نوکلئوبازهای آسیب‌دیده شرکت می‌کنند. در راستای این هدف، قطعات DNA سنتزی (ODNs) با طول ۳۳ باز که دارای باز تغییر یافته 5-OH-cytosine بودند با آنزیم *Fapy* –N–DNA–گلیکوزیلاز (Fpg) هضم شدند، و مخلوط قطعات برشی به منظور درک مکانیسم برش با روش طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF مورد آنالیز واقع شد، و نتایجی مبنی بر این که مکانیسم عملکرد آنزیم مذکور بر روی 5-OHC- از نوع مکانیسم حذف بتا، دلتا (β-δ elimination) می‌باشد، به‌دست آمد (شکل۳). تفسیر نتایج بدین صورت بود، که چون جرم قطعات حاصل از برش با آنزیم، با جرم قطعات پیش‌بینی‌شده حاصل از برش با مکانیسم حذف بتا،دلتا مطابقت داشت، صحت نتایج مورد تایید واقع شد (D'Ham *et al*., 1999).



شکل ۳. این شکل آنالیز طیف جرمیMALDI-TOF برای خروج باز 5-OH-cytosine از قطعه ۳۳ مری توسط آنزیم Fpg را نشان می‌دهد (توضیح بیشتر در متن آمده است.) (D'Ham *et al*., 1999).

از تکنیک تصویر برداری طیف‌سنجی جرمی مالدی (MALDI-MSI) برای مطالعه و آنالیز توزیع پرتئین‌ها، لیپیدها، داروها و متابولیت‌ها به صورت[۱] (In Situ) در مقاطع بافتی استفاده شده است. مثلاً باکتری باسیلوس (*Bacilli*) در مواجهه با شرایط محیطی مختلف حالت دینامیک داشته و متابولیت‌های ثانویه تولید می‌کند، یکی از این‌ها، آنتی‌بیوتیک لیپو پپتیدی است، که با روش (MALDI-MSI) در باکتری ردیابی و نقشه‌برداری شده است (Debois *et al*., 2016). این فناوری امروزه به‌طور گسترده در آزمایشگاه‌ها در کل دنیا به منظور شناسایی بیومارکرهایی برای تشخیص زودرس انواع سرطان، خصوصاً سرطان‌های پستان و دستگاه تولیدمثل مانند سرطان تخمدان، پروستات، دهانه رحم وآندومتر به‌کار گرفته می‌شود (Raftery *et al*., 2015). یک بیومارکر ویژگی خاصی از یک نوع سلول، بافت یا موجود زنده است که نشان‌دهندهٔ وضعیت فیزیولوژیک آن می‌باشد. در پزشکی، مهم‌ترین بیومارکرها آنهایی هستند، که با بروز بیماری ظاهرمی‌شوند و با اتمام بیماری از بین می‌روند. سرطان بیش از سایر بیماری‌ها به‌وسیله روش‌های پروتئومیکس و با کمک طیف‌سنجی جرمی مورد مطالعه قرار گرفته است، شاید به این دلیل که می‌توان هم نمونه سرطانی و هم نمونه سالم را به مقدار کافی از یک فردگرفت، و بدین ترتیب یافتن بیومارکرها آسان‌تر می‌شود، زیرا تفاوت‌های مشاهده شده، نمی‌تواند به تفاوت‌های ژنتیکی افراد مربوط شود، و بررسی پروتئین‌ها به‌ویژه هر نوع سرطان را در الگوی ژل دوبعدی و با طیف‌سنجی‌جرمی می‌توان راحت‌تر تشخیص داد، و از این طریق می‌توان برای هر نوع سرطان یک نوع بیومارکر اختصاصی تعریف کرد (جدول۱) به‌عنوان مثال سرطان کولورکتال ناشی از تجمع جهش‌های ژنتیکی و تغییرات اپی‌ژنتیکی در سلول‌های اپیتلیوم نرمال روده است، که باعث پیشرفت آن می‌شود. با مطالعه و بررسی تغییرات مولکولی که زیربنای پیشرفت این بیماری هستند، می‌توان رفتار تومورها را درک کرده، و نیز بیومارکرهایی را کشف کرد، که در تشخیص بیماری، نظارت بر پاسخ به درمان، و یا پیش‌بینی نتایج بیماری بسیار مؤثراند (Luo *et al*., 2013).

جدول ۱. تعدادی ازبیومارکرهای پروتئینی که ویژه انواع خاصی ازسرطان‌ها هستند، و باکمک روش طیف‌سنجی‌جرمی شناسایی شده‌اند (Zamanian-Azodi *et al*., 2013).

نوع مارکر	نوع سرطان
RHOGDI، FK506BP وگلی اکسالاز-۱	سرطان مهاجم تخمدان
آنکسین-۱	مراحل اولیه سرطان پروستات و مری
سیتوکراتین‌ها و PGP9.5	سرطان ریه
PCNA،HSP90،HSP60،HSP27،RS/DJ	سرطان پستان
سارکوزین دهیدروژناز،لامین1B،Hcc-1	کارسینومای هپاتوسلولار
nm23-H1،Op18	لوسمی
HSP70،S100-A9 ،S100-A11	سرطان کولورکتال
کراتین‌ها، سوریاسین (psoriasin)	سرطان مثانه

بحث و نتیجه‌گیری

طیف‌سنجی جرمی روش مفیدی برای وسعت دادن اطلاعات ما در زمینه شناسایی پروتئین‌ها می‌باشد. تحقیقات گسترده‌ای پیرامون پروتئین‌ها توسط این تکنیک صورت گرفته است، و پروتئین‌های زیادی توسط این روش شناسایی و عملکردشان تعیین شده است. مطالعه همه محتوای پروتئینی یک نمونه زیست شناختی در یک مجموعه آزمایشات از اهداف عمده‌ی

۱. بررسی دقیق یک پدیده در جایی که آن رخ می‌دهد به‌عنوان مثال، بدون حرکت دادن آن به یک محیط ویژه.

پروتئومیکس می‌باشد، که این روش نقش زیادی در تحقق این اهداف داشته است. این تکنیک می‌تواند راهکار با ارزشی برای درک پاسخ‌های پیچیده یک ارگانیسم به یک محرک باشد، حساسیت و قدرت تفکیک بالای این روش باعث شده که امکان جداسازی و شناسایی کمپلکس‌های پروتئینی ناشناخته و پروتئین‌های با مقدارکم میسر شود، که این ویژگی مزیت فوق‌العاده این روش نسبت به روش‌های دیگر می باشد. فناوری‌های جدید طیف‌سنجی جرمی نه تنها پتانسیل اثرگذاری بر روش‌های تشخیصی و پیش آگهی بیماری‌ها را دارند، بلکه درگسترش داروهای کلینیکی و پیش‌کلینیکی نیز نقش عمده‌ای خواهند داشت. همچنین این تکنیک به شناسایی بیومارکرهایی جهت تشخیص زودهنگام و کشف الگوهایی برای پیش‌بینی نتایج روش‌های درمانی، کمک می‌کند. با شناخت این بیومارکرها درک پاتوفیزیولوژیکی بیماری‌های مختلف به‌ویژه سرطان بهبود یافته است. در سال‌های اخیر استفاده از SELDI-TOF به‌همراه MALDI-TOF و الکتروفورز دو بعدی و تکنیک‌های جداسازی به سرعت رو به افزایش بوده است، و امید است که تکنولوژی رو به گسترش پروتئومیک، به عنوان ابزار تشخیصی کلینیکی مورد استفاده قرارگیرد. توسعه و کاربرد این فناوری‌ها در نمونه‌های کلینیکی، نوید بخش پیشرفت‌هایی در زمینه تشخیص زودهنگام سرطان، پیشگیری و درمان‌های اختصاصی تومور خواهد شد (Raftery *et al*., 2015).

سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد (۸۸۹۲-۱۵۰-۱-۱-۱۳۹۱) تصویب شده، در دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی- کمیته تحقیقات دانشجویی می‌باشد، لذا نویسندگان مراتب تشکر را از معاونت پژوهشی این دانشگاه می‌نمایند.

REFERENCES

Bourdat, A.G.; Gasparutto, D.; Cadet, J.; (1999). Synthesis and enzymatic processing of oligodeoxynucleotides containing tandem base damage. Nucleic Acids Research; 27(4): 1015-1024.

Butenandt, J.; Burgdorf, L.T.; Carell, T.; (1999). Synthesis of DNA lesions and DNA-lesion-containing oligonucleotides for DNA-repair studies. Synthesis; (7): 1085-1105.

Carney, J.P.; Maser, R.S.; Olivares, H.; Davis, E.M.; Le Beau, M.; Yates, J.R.; *et al*.; (1998). The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response. Cell; 93(3): 477-486.

Chait, B.T.; Cadene, M.; Olinares, P.D.; Rout, M.P.; Shi, Y.; (2016). Revealing Higher Order Protein Structure Using Mass Spectrometry. Journal of The American Society for Mass Spectrometry. Apr 14:1-4.

Chen, L.; Wang, N.; Sun, D.; Li, L.; (2014). Microwave-assisted acid hydrolysis of proteins combined with peptide fractionation and mass spectrometry analysis for characterizing protein terminal sequences. Journal of Proteomics; (100): 68-78.

Crain, P.F.; McCloskey, J.A.; (1998). Applications of mass spectrometry to the characterization of oligonucleotides and nucleic acids. Current Opinion in Biotechnology; 9(1): 25-34.

Debois, D.; Ongena, M.; Cawoy, H.; De Pauw, E.; (2016). In Situ Analysis of Bacterial Lipopeptide Antibiotics by Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Mass Spectrometry Imaging. Nonribosomal Peptide and Polyketide Biosynthesis: Methods and Protocols; 161-173.

D'Ham, C.; Romieu, A.; Jaquinod, M.; Gasparutto, D.; Cadet, J.; (1999).

Excision of 5, 6-dihydroxy-5, 6-dihydrothymine, 5, 6-dihydrothymine, and 5-hydroxycytosine from defined sequence oligonucleotides by Escherichia coli endonuclease III and Fpg proteins: kinetic and mechanistic aspects. Biochemistry; 38(11): 3335-3344.

Faini, M.; Stengel, F.; Aebersold, R.; (2016). The Evolving Contribution of Mass Spectrometry to Integrative Structural Biology. Journal of The American Society for Mass Spectrometry. Apr 7:1-9.

Fernández-Suárez, X.M.; Galperin, M.Y.; (2012). The 2013 Nucleic Acids Research Database Issue and the online molecular biology database collection. Nucleic Acids Research; gks1297.

Finehout, E.J.; Lee, K.H.; (2004). An introduction to mass spectrometry applications in biological research. Biochemistry and Molecular Biology Education; 32(2): 93.

Gao, X.; Tan, B.H.; Sugrue, R.J.; Tang, K.; (2013). MALDI mass spectrometry for nucleic acid analysis. In Applications of MALDI-TOF Spectroscopy. Springer Berlin Heidelberg; 55-77.

Glish, G.L.; Vachet, R.W.; (2003). The basics of mass spectrometry in the twenty-first century. Nature Reviews Drug Discovery; 2(2): 140-150.

Grebe, S.K.G.; Singh, R.J.; (2011). LC-MS/MS in the Clinical laboratory-Where to from here?. The Clinical Biochemist Reviews; 32(1): 5.

Kelleher, N.L.; (2013). Status of Mass Spectrometry-Based Proteomics and Metabolomics in Basic and Translational Research. Biochemistry; 52(22): 3794-3796.

Lausted, C.; Lee, I.; Zhou, Y.; Qin, S.; Sung, J.; Price, N.D.; *et al*.; (2014). Systems approach to neurodegenerative disease biomarker discovery. Annual Review of Pharmacology and Toxicology; (54):457-481.

Lewis, J.K.; Krone, J.R.; Nelson, R.W.; (1998). Mass spectrometric methods for evaluating point mutations. Biotechniques; 24(1): 102-104.

Liesenfeld, D.B.; Habermann, N.; Owen, R.W.; Scalbert, A.; Ulrich, C.M.; (2013). Review of Mass Spectrometry-Based Metabolomics in Cancer Research. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention; 22(12): 2182-2201.

Link, A.J.; Hays, L.G.; Carmack, E.B.; Yates, J.R.; (1997). Identifying the major proteome components of Haemophilus influenzae type-strain NCTC 8143. Electrophoresis; 18(8): 1314-1334.

Lubin, A.; Geerinckx, S.; Bajic, S.; Cabooter, D.; Augustijns, P.; Cuyckens, F.; *et al*.; (2016). Enhanced performance for the analysis of prostaglandins and thromboxanes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a new atmospheric pressure ionization source. Journal of Chromatography A. Apr 1;1440:260-5.

Luo, Y.; Wang, L.; Wang, J.; (2013). Developing proteomics-based biomarkers for colorectal neoplasms for clinical practice: Opportunities and challenges. PROTEOMICS-Clinical Applications; 7: 30-41.

Michener, C.M.; Ardekani, A.M.; Petricoin, E.F.; Liotta, L.A.; Kohn, EC.; (2002). Genomics and proteomics: application of novel technology to early detection and prevention of cancer. Cancer Detection and Prevention; 26(4): 249-255.

Patterson, N.H.; Doonan, R.J.; Daskalopoulou, S.S.; Dufresne, M.; Lenglet, S.; Montecucco, F.; *et al*.; (2016). 3D imaging mass spectrometry of lipids in atherosclerotic plaques: Open-source methods for reconstruction and analysis. Proteomics. Mar 1.

Posadas, E.M.; Simpkins, F.; Liotta, L.A.; MacDonald, C.; Kohn, E.C.; (2005). Proteomic analysis for the early detection and rational treatment of

cancer-realistic hope?. Annals of Oncology; 16(1): 16-22.

Raftery, D.M.; Pan, Z.; Gu, H.; (2015). inventors; Purdue Research Foundation, assignee. Breast cancer biomarkers and identification methods using NMR and gas chromatography-mass spectrometry. United States patent US 8,980,637. Mar 17.

Sauer, S.; Kliem, M.; (2010). Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. Nature Reviews Microbiology; 8(1):74-82.

Schulenborg, T.; Schmidt, O.; Van Hall, A.; Meyer, H.E.; Hamacher, M.; Marcus, K.; (2006). Proteomics in neurodegeneration-disease driven approaches. Journal of Neural Transmission; 113(8): 1055-1073.

Sun, D.; Wang, N.; Li, L.; (2013). In-Gel Microwave-Assisted Acid Hydrolysis of Proteins Combined with Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry for Mapping Protein Sequences. Analytical Chemistry; 86(1): 600-607.

Williams, R.S.; Dodson, G.E.; Limbo, O.; Yamada, Y.; Williams, J.S.; Guenther, G.; *et al*.; (2009). Nbs1 flexibly tethers Ctp1 and Mre11-Rad50 to coordinate DNA double-strand break processing and repair. Cell; 139(1): 87-99.

Wulfkuhle, J.D.; Liotta, L.A.; Petricoin, E.F.; (2003). Proteomic applications for the early detection of cancer. Nature Reviews Cancer; 3(4): 267-275.

Zamanian-Azodi, M.; Rezaei-Tavirani, M.; Mortazavian, A.; Vafaee, R.; Rezaei-Tavirani, M.; Zali, H.; *et al*.; (2013). Application of proteomics in cancer study. American Journal of Cancer Science; 2(2): 116-34.