عنوان درس به فارسی: روش‌های بیوفیزیک

عنوان درس به انگلیسی : Methods of Biophysics

تعداد واحد: ۲

تعداد ساعت: ۳۲

نوع درس: الزامی

نوع واحد: نظری

پیش نیاز: ندارد

آموزش تکمیلی عملی: داردO ندارد◉ سفر علمی O کارگاهO آزمایشگاه O سمینارO

اهداف کلی درس: هدف این درس، آشنایی دانشجویان با آن دسته از روش های فیزیکی که در جداسازی و شناسایی بیوماکرومولکولها بویژه پروتیین ها و آنزیم ها مورد استفاده قرار می گیرند و تکنیک های مختلف اسپکتروسکوپی می باشد. در این درس ضمن آموزش مبنای نظری هر روش توانایی ها و محدودیت های آن ها در مطالعه بیوماکرومولکولها تدریس می شود.

سرفصل درس:

فصل اول-کروماتوگرافی

۱-کروماتوگرافی لایه نازک: روش پوشش دادن، آماده سازی، نمونه گذاری، اجرا، مکانیابی لکه‌ها، مثال‌هایی از جداسازی لیپیدها، اسیدهای آمینه و مواد طبیعی

۲-کروماتوگرافی ستونی: دسته‌بندی بر اساس فازها و مکانیزم عمل، کروماتوگرافی خطی و علل انحراف از آن، نظریه کروماتوگرافی (نظریه صفحات فرضی) نظریه سرعت، کارآیی ستون و عوامل مؤثر بر آن، رزولوشن، معادلهٔ وان دیمتر و عوامل مؤثر در پهن شدن پیک‌ها، Scale upدر کروماتوگرافی ستونی

۳- LC & HPLCاجزاء دستگاه، پمپ‌ها و گرادیان حلال، فاز ساکن و عوامل مؤثر در عملکرد (دانه‌بندی، گروه‌های عاملی)

کاربرد کروماتوگرافی مایع در جداسازی پروتئین‌ها:

کروماتوگرافی معاوض یون، معرفی رزین‌ها، عوامل مؤثر در جداسازی پروتئین‌ها، قدرت یونی pH، pI

کروماتوگرافی تمرکزی، کروماتوگرافی برهم کنش های آبگریز، کروماتوگرافی کوالان،

کروماتوگرافی تمایلی، کروماتوگرافی مایعات فوق بحرانی

(Suppercritical Fluids Chromatograpy)

دتکتورهای LC & HPLC: UV-Vis، الکتروشیمیایی و Massو طراحی خاص هریک

۴-GCاجزاء دستگاه، ستون های باز و نحوهٔ عمل آنها، تزریق و روش‌های حذف خطا ، (Split & Splitless injection)باریک نمودن باند (Sample trappings)اساس کار دتکتورهای (FID, TCD, ECD)- مزیت ها و محدودیت ها

فصل دوم- الکتروفورز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک

۱-کلیات: اهداف و عوامل مؤثر (تحرک الکتروفورتیک، میدان، بار، دما)

۲- عملیات الکتروفورز: سیستم های بافری (پیوسته و ناپیوسته)، نازک نمودن باند (Stacking)- محیط های الکتروفورز (بافر، ژل پلی اکریل، آگار و نشاسته)

۳- روشهای الکتروفورز: جداسازی پروتئین طبیعی (PAGE)، تعیین وزن مولکولی (SDS – PAGE)، الکتروفورز گرادیان ژل، ایزوالکتریک فوکوسینگ، الکتروفورز دو بعدی، الکتروفورز با لوله های موئین، الکتروفورز میدان پالسی برای جداسازی اسیدهای نوکلئیک، روش های انتقال باندها و انواع بلاتینگ

فصل سوم- طیف نگار جرمی (Mass Spectrometry)

Mass به عنوان دتکتور LC، HPLC، GCو الکتروفورز

LC-Mass Interface و Electrophoresis-Mass Interface

تکنیک های مختلف Mass:الف- طیف نگار قطاع مغناطیسی، اصول جداسازی و آشکارسازی، الگوهای شناسایی یون مولکولی و سایر اجزاء مولکولی، یونیزاسیون شیمیایی **ب- طیف نگار چهار قطبی ج- طیف نگار زمان پرواز**، مثالهایی از کاربردها

فصل چهارم- طیف نگاری UV-Vis برای اسیدهای آمینه و پروتئین ها

انتقالات الکترونی در گسترهٔ UV-Vis، قانون بی‌یر کاربردها و محدودیت‌ها، گونه‌های جاذب در مواد آلی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، دستگاه هوری (تک پرتوی، دو پرتوی و Diode Array) تعیین غلظت، بررسی عوامل مؤثر در جذب پروتئین‌ها: غلظت، حلال، دما، جهت گیری مولکول، pH، لیگاند

فصل پنجم – طیف بینی فلورسانس

نظریه فلورسانس، فرآیندهای آسایش (ناتابشی و فلورسانس)، خطوط رزونانسی و جابجایی استوکس، بهرهٔ کوانتومی، رابطهٔ طیف برانگیختگی و طیف فلورسانس، گونه های فلورسانس رابطهٔ فلورسانس و ساختار، ترکیبات آروماتیک، استخلاف ها، ترکیبات صلب و کمپلکس ها) رابطهٔ غلظت و شدت فلورسانس، مقایسه دستگاهوری فلورسانس با UV-Vis

فلورسانس ذاتی در اسیدهای آمینه و پروتئین ها، استفاده از عوامل فلورسانس در کنفورماسیون پروتئین ها، نمونه هایی از مطالعات انجام شده در آزمایشگاه

فصل ششم- طیف بینی دورنگ نمایی دورانی (Circular Dichorism, CD)

۱- اساس فیزیکی دورنگ نمایی دورانی، نور قطبیده مسطح و بیضوی، فعالیت نوری(راست گرد و چپ گرد)

۲- دستگاهوری دورنگ نمایی دورانی

۳- مطالعات ساختاری پروتئین ها: دورنگ نمایی دورانی ناحیه دور UV (پیوندهای پپتیدی)، ناحیهٔ نزدیک UV (اسیدهای آمینه آروماتیک)، ناحیهٔ مرئی و سورت (کوفاکتور و لیگاند)، مطالعهٔ فرآیند تاخوردن و بازشدن پروتئین ها

روش ارزیابی:

ارزشیابی مستمر	میان ترم	آزمون های نهایی	پروژه
٪۱۰	٪۳۰	✓آزمون های نوشتاری ٪۶۰	———
		عملکردی	

فهرست منابع:

1. Daniel C. Harris, Quantitative Chemical Analysis, 7th Edition, W H Freeman & Co (2006) - ISBN 0716761254
2. Douglas A. Skoog, F. James Holler, Stanley R. Crouch, Principles of instrumental analysis - Thomson Brooks/Cole (2007), 1039 pages - ISBN 0495012017
3. Bengt Nolting, Method in Modern Biophysics, (2003) Springer.
4. Ranjbar, B., Gill, P., Circular Dichroism Techniques: Biomolecular and Nanostructural Analyses – A Review, Chem Biol Drug Des, 2009, 74: 101-120.
5. بیژن رنجبر، حسین نادری منش، خسرو خلیفه «مبانی بیوفیزیک:بیوفیزیک پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک و طیف سنجی، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۸۹.