



آنزیم‌های نو ترکیب از علوم پایه تا تجاری سازی

تألیف:

آزورا عمید

ترجمه:

دکتر بهناز صفار

معصومه یوسف زاده

سرشناسه:	عمید، آزورا
عنوان و نام پدیدآور:	Amid, Azura آنزیم‌های نو ترکیب از علوم پایه تا تجاری سازی/ تألیف آزورا عمید؛ ترجمه بهناز صفار، معصومه یوسف زاده.
مشخصات نشر:	شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، ۱۳۹۹
مشخصات ظاهری:	۲۷۱ ص: مصور، جدول، نمودار.
شابک:	۹۷۸-۹۶۴-۷۶۶۵۳۷-۷
وضعیت فهرست‌نویسی:	فیبا
یادداشت:	عنوان اصلی: ۲۰۱۴ Recombinant Enzymes from Basic Science to Commercialization
یادداشت:	کتابنامه.
موضوع:	آنزیم‌ها
موضوع:	نو ترکیبی دی.ان.ا.
موضوع:	Recombinant DNA
موضوع:	تکنولوژی زیستی
موضوع:	Biotechnology
شناسه افزوده:	صفار، بهناز، ۱۳۵۳ - مترجم
شناسه افزوده:	یوسف زاده، معصومه، ۱۳۵۶ - مترجم
شناسه افزوده:	دانشگاه شهرکرد
رده بندی کنگره:	Qp60
رده بندی دیویی:	۵۷۱.۹۲۵
شماره کتابخانه ملی:	۶۲۱۱



انتشارات دانشگاه شهرکرد

نام کتاب:	آنزیم‌های نو ترکیب از علوم پایه تا تجاری سازی
تألیف:	آزورا عمید
ترجمه:	بهناز صفار، معصومه یوسف‌زاده
ویراستار ادبی:	امین بنی‌طالبی دهکردی
ناشر:	دانشگاه شهرکرد
امور فنی و اجرایی:	فاطمه قائی و توران رستمی
چاپ اول:	بهار ۱۳۹۹
تیراژ:	۵۰۰ نسخه
قطع:	وزیری
چاپ:	گاندی
قیمت:	۷۰۰۰۰۰ ریال
شابک:	۹۷۸-۹۶۴-۷۶۶۵۳۷-۷

کلیه حقوق این اثر برای نویسندگان و دانشگاه شهرکرد محفوظ است.
نشانی: چهارمحال و بختیاری، شهرکرد، بلوار رهبر، انتشارات دانشگاه شهرکرد، صندوق پستی ۱۱۵.

پیش‌گفتار

آنزیم نوترکیب، دارای کاربردهای زیادی در صنعت می‌باشد. مطالعات بسیاری بر روی فواید، بازده، مقاومت، پایداری و کاربردهای این آنزیم توسط محققان در سراسر جهان انجام شده است. جزئیات تولید انبوه آنزیم نوترکیب، به ندرت مورد بحث قرار گرفته است؛ زیرا این جزئیات توسط بسیاری از شرکت‌های بزرگ تولیدکننده آن به صورت محرمانه نگهداری می‌شود. اغلب، یافته‌های خوب آخرین کشفیات در آزمایشگاه تجاری‌سازی نشده و کنار گذاشته می‌شوند. بنابراین، هدف اصلی این کتاب، نشان دادن اهمیت و نقش مهم علم پایه در تجاری‌سازی نتایج تحقیقات محققان می‌باشد که باید مورد توجه قرار گیرد. در فصل اول این کتاب، خواننده با آنزیم نوترکیب و اهمیتش در زندگی روزمره آشنا خواهد شد. در این فصل همچنین، اهمیت تحقیق و پژوهش و راه‌های تجاری‌سازی مطرح می‌شود. در فصل دوم، چگونگی تولید DNA نوترکیب، توضیح داده می‌شود. در فصل‌های ۳ و ۴، مراحل شناسایی و تخلیص آنزیم نوترکیب بررسی می‌گردد. در فصل ۵ بعد از ساخت اولین پایه، فرایندهای بالادستی تخمیر که شامل فرمولاسیون محیط کشت به منظور افزایش روند تولید می‌باشد، مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد. در فصل ۷، نیز با روش‌های جدید انبوه و صنعتی محصول آشنا خواهید شد. در ادامه و در فصل ۸، فرایندهای پایینی آنزیم نوترکیب بحث می‌شود. در این فصل، ضرورت چهار مرحله از فرایندها جهت اطمینان از خلوص و کیفیت بالای آنزیم نوترکیب، توضیح داده می‌شود. برای اطمینان از مناسب بودن یک محصول جهت تولید در مقیاس بزرگ و صنعتی، نیاز به طراحی مهندسی می‌باشد. بنابراین فصل ۹، چگونگی روند طراحی مهندسی را در قالب نرم‌افزاری اختصاصی، بیان می‌دارد. در این فصل همچنین، اهمیت اقتصادی و آنالیز ارزیابی محیطی به‌وسیله نرم‌افزار بحث خواهد شد. در پایان و در فصل‌های ۱۰ و ۱۱ و ۱۲ بررسی موردی برومیلین نوترکیب برای خوانندگان ارائه خواهد شد. این آنزیم پس از کلون‌سازی توسط روش‌های DNA نوترکیب، مراحل بیان شده در فصل‌های ۲ تا ۹ را پشت سر گذاشته است. در پایان لازم به ذکر است که بدون همکاری اعضا، از جمله ناشر و نویسندگان و ویراستاران، این کتاب به چاپ نمی‌رسید. امیدواریم این کتاب مشوق محققان در ادامه تحقیقات پایه

راجع به آنزیم‌های نوترکیب بوده و در نهایت، منجر به تجاری‌سازی آن‌ها گردد. این کتاب به تمام محققانی که در زمینه آنزیم نوترکیب فعالیت می‌کنند، به‌خصوص محققان مالزیایی اهدا می‌شود. نویسنده آرزو دارد که روزی مالزی خودش تولیدکننده آنزیم نوترکیب باشد؛ به طوری که بسیاری از دانشجویان و مهندسان بیوشیمی قادر به کاربردی کردن علومشان گردند.

آزورا امید

www.ketab.ir

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱.....	فصل اول - مقدمه‌ای بر تجاری‌سازی آنزیم نو ترکیب
۲.....	۱-۱- آنزیم نو ترکیب
۲.....	۱-۱-۱- آنزیم نو ترکیب چیست؟
۲.....	۱-۱-۲- تفاوت بین آنزیم طبیعی و آنزیم نو ترکیب
۳.....	۱-۱-۳- کاربردها
۴.....	۱-۲- دلایل انتخاب آنزیم نو ترکیب؟
۴.....	۱-۲-۱- کوتاه شدن زمان تخمیر و تخلیص محصولات
۴.....	۱-۲-۲- تولید آنزیم‌ها، پیچیده و کمیاب برای کاربردهای صنعتی
۵.....	۱-۲-۳- تولید پرنتین، روش حلال از بافت انسان یا حیوان
۵.....	۱-۳- دلایل تجاری‌سازی
۵.....	۱-۳-۱- خشنودی محققان
۶.....	۱-۳-۲- شاخص کلیدی عملکرد محققان
۶.....	۱-۳-۳- تولید درآمد
۶.....	۱-۴- نیازهای بازار
۷.....	۱-۴-۱- پالایش نوآوری
۷.....	۱-۴-۲- شناخته‌شدن محقق
۸.....	۱-۴-۳- پاداش‌های مالی
۸.....	۱-۴-۴- روش‌های تجاری‌سازی
۸.....	۱-۴-۵- جواز
۹.....	۱-۴-۶- سرمایه‌گذاری مشترک (شرکت مشارکتی) یا شرکت سهامی
۱۰.....	۱-۴-۷- استراتژی‌هایی (راهکارهایی) برای تجاری‌سازی
۱۰.....	۱-۵- شناسایی محصول مناسب
۱۰.....	۱-۵-۱- ثبت اختراع برای محافظت از محصول؟
۱۱.....	۱-۵-۲- تبلیغات و بازاریابی
۱۱.....	۱-۵-۳- ارتباط با صنایع
۱۲.....	۱-۵-۴- امکان شناسایی سرمایه‌گذار
۱۲.....	۱-۵-۵- شناسایی و به کارگیری امتیاز تجاری‌سازی

۱-۶-۱- موانع پیش تجاری سازی.....	۱۳
۱-۶-۱- خط تولید هر محصول منحصر به فرد می باشد.....	۱۳
۱-۶-۲- روش های تولید آزمایشگاهی برای تولید در مقیاس بالا، مناسب نیستند.....	۱۳
۱-۶-۳- تنظیم دقیق هر واحد عملکردی و تولیدی.....	۱۴
۱-۶-۴- تجارت غیر اخلاقی رقبا.....	۱۴
منابع.....	۱۵
فصل دوم- آنزیم نو ترکیب: همسانه سازی و بیان.....	۱۷
۱-۲- همسانه سازی (کلون سازی).....	۱۸
۱-۱-۲- همسانه سازی cDNA.....	۲۰
۲-۲- وکتور (حامل) برای همسانه سازی.....	۲۴
۳-۲- انتخاب میزبان مناسب برای بیان آنزیم های نو ترکیب.....	۲۷
منابع.....	۲۹
فصل سوم- روش های آزمایشگاهی متداول.....	۳۱
۱-۳- مقدمه.....	۳۱
۲-۳- ارزیابی رشد باکتریایی به روش کشت سنجی.....	۳۲
۱-۲-۳- اصول.....	۳۲
۲-۲-۳- هدف آزمایش.....	۳۳
۳-۲-۳- مواد و روش ها.....	۳۳
۴-۲-۳- نتایج و بحث.....	۳۴
۳-۳- سنجش پروتئین کل.....	۳۵
۱-۳-۳- مبانی.....	۳۵
۲-۳-۳- هدف از آزمایش.....	۳۵
۳-۳-۳- مواد و روش ها.....	۳۶
۴-۳-۳- نتایج (جدول ۲-۳).....	۳۷
۴-۳- سنجش فعالیت آنزیم.....	۳۸
۱-۴-۳- سنجش فعالیت آنزیم با استفاده از سوپسترای LNPE.....	۴۰
۱-۱-۴-۳- اصول.....	۴۰
۲-۱-۴-۳- هدف آزمایش.....	۴۰

۴۰	۳-۱-۴-۳- مواد و روش‌ها
۴۴	۳-۱-۴-۴- نتایج و بحث
۴۶	۳-۱-۴-۵- نتیجه‌گیری
۴۶	۳-۴-۲- سنجش فعالیت آنزیم با استفاده از سویسترای کازئین
۴۶	۳-۴-۲-۱- مبانی
۴۷	۳-۴-۲-۲- هدف آزمایش
۴۷	۳-۴-۲-۳- مواد و روش‌ها
۴۸	۳-۴-۲-۴- روش کار
۵۳	۳-۴-۲-۵- نتایج و بحث (جدول ۳-۷)
۵۴	۳-۴-۲-۶- نتیجه‌گیری
۵۴	۳-۵-۲- ژل الکتروفرز (SDS-PAGE)
۵۴	۳-۵-۱- اصول کلی
۵۵	۳-۵-۲- هدف آزمایش
۵۵	۳-۵-۳- مواد و روش‌ها
۵۷	۳-۵-۴- نتایج
۵۸	منابع
۵۹	فصل چهارم- خواص آنزیم نو ترکیب
۶۰	۴-۱- مقدمه
۶۲	۴-۲- خصوصیات بیوشیمیایی
۶۲	۴-۲-۱- اسید آمینه‌های موجود در جایگاه فعال و جایگاه کاتالیز
۶۲	۴-۲-۲- اثر دما بر فعالیت و پایداری آنزیم
۶۵	۴-۲-۳- تأثیر pH بر پایداری و فعالیت آنزیم
۶۷	۴-۳- خصوصیات ساختاری و بیوفیزیکی
۶۷	۴-۴- شناسایی تغییرات پس ترجمه‌ای
۶۹	۴-۵- روش‌های محاسباتی و بیوانفورماتیکی برای بررسی ساختار و عملکرد پروتئین‌ها
۷۲	۴-۶- مشخصه‌های فیزیکوشیمیایی
۷۲	۴-۶-۱- روش اسپکتروسکوپی
۷۲	۴-۶-۱-۱- طیف‌سنجی جذبی فرابنفش

۷۳	۴-۶-۱-۲- طیف‌سنجی فلورسانس
۷۴	۴-۶-۲- روش‌های کروماتوگرافی
۷۴	۴-۶-۱-۲- کروماتوگرافی بر اساس اندازه
۷۵	۴-۶-۲-۲- کروماتوگرافی فاز معکوس
۷۶	۴-۶-۲-۳- کروماتوگرافی برهم‌کنش آبگریز
۷۶	۴-۶-۲-۴- کروماتوگرافی تعویض یونی Exchange Ion Chromatography
۷۶	۴-۶-۳- روش‌های الکتروفورز
۷۶	۴-۶-۳-۱- ژل الکتروفورز Gel Electrophoresis
۷۷	۴-۶-۳-۱- الکتروفورز موئینه‌ای Capillary electrophoresis (CE)
۷۷	۴-۶-۴- آنالیز پروتئین‌های بیودارویی از طریق طیف‌سنجی جرمی
۷۸	۴-۷-۱- اختصاصی بودن روش‌های استر، مکانیسم‌ها و سینتیک‌ها
۷۸	۴-۷-۱- اختصاصی بودن روش‌های استر
۸۲	۴-۸- پارامترهای سینتیکی ای فعالیت‌های جانبی در مقابل فعالیت‌های طبیعی
۸۴	منابع
۸۷	فصل پنجم- تخلیص پروتئین و ترانس‌پلانت برای مصارف صنعتی
۸۸	۵-۱- مقدمه
۹۰	۵-۲- بیان پروتئین نو ترکیب
۹۱	۵-۳- تشخیص و سنجش کمی پروتئین نو ترکیب
۹۳	۵-۴- تولید پروتئین نو ترکیب
۹۳	۵-۵- آماده‌سازی نمونه جهت تخلیص
۹۴	۵-۵-۱- پایداری پروتئین
۹۵	۵-۵-۲- تصفیه (پاکسازی) نمونه
۹۶	۵-۵-۳- نمک‌زدایی و تبادل بافر
۹۶	۵-۶- تخلیص پروتئین نو ترکیب
۹۷	۵-۶-۱- تخلیص پروتئین نو ترکیب بدون تگ توسط کروماتوگرافی ستونی
۹۸	۵-۶-۲- تخلیص پروتئین نو ترکیب نشان‌دار توسط کروماتوگرافی ستونی
۱۰۱	۵-۶-۳- تخلیص پروتئین نو ترکیب توسط سیستم‌های دوفازی آبی (ATPS)
۱۰۵	۵-۶-۱- وزن مولکولی پلیمر

۶-۵- تخلیص پروتئین نوترکیب.....	۹۶
۵-۶-۱- تخلیص پروتئین نوترکیب بدون تگ توسط کروماتوگرافی ستونی.....	۹۷
۵-۶-۲- تخلیص پروتئین نوترکیب نشاندار توسط کروماتوگرافی ستونی.....	۹۸
۵-۶-۳- تخلیص پروتئین نوترکیب توسط سیستم‌های دوفازی آبی (ATPS).....	۱۰۱
۵-۶-۳-۱- وزن مولکولی پلیمر.....	۱۰۵
۵-۶-۳-۲- pH.....	۱۰۶
۵-۶-۳-۳- حضور نمک‌های خنثی.....	۱۰۷
۵-۶-۳-۴- خواص سطحی بیومولکول‌ها.....	۱۰۷
۵-۷- تخلیص در حجم بالایی از تولید.....	۱۰۸
۵-۸- مشکلات موجود در تخلیص صنعتی پروتئین نوترکیب.....	۱۱۰
۵-۸-۱- دما.....	۱۱۰
۵-۸-۲- گاززدایی فاز مایع.....	۱۱۰
۵-۸-۳- از دست رفتن (اتلاف) محصول.....	۱۱۱
۵-۹- نتیجه‌گیری.....	۱۱۱
منابع.....	۱۱۳
فصل ششم.....	۱۱۷
تخمیر آنزیم نوترکیب.....	۱۱۷
۶-۱- مقدمه.....	۱۱۷
۶-۲- فرمولاسیون محیط کشت.....	۱۱۸
۶-۲-۱- غربالگری اجزای مهم محیط کشت.....	۱۲۱
۶-۲-۲- بهینه‌سازی فرمولاسیون محیط کشت.....	۱۲۵
۶-۲-۳- خلاصه‌ای از فرمولاسیون محیط کشت.....	۱۲۷
۶-۲-۴- فاکتورهای فیزیکی تخمیر.....	۱۲۸
۶-۲-۵- اثر دما بر فعالیت ویزه آنزیم نوترکیب.....	۱۲۸
۶-۲-۶- اثر اکسیژن محلول بر تولید آنزیم نوترکیب.....	۱۲۹
۶-۲-۷- اثر زمان القاء در تولید آنزیم نوترکیب.....	۱۲۹
۶-۲-۸- بهینه‌سازی پارامترهای فیزیکی جهت فعالیت ویزه آنزیم نوترکیب.....	۱۳۱
۶-۳- چالش‌های موجود در تخمیر <i>E.coli</i> جهت تولید آنزیم نوترکیب در بیوراکتور.....	۱۳۲

۱۳۳	۱-۳-۶- پایداری پلاسمیدی
۱۳۵	۲-۳-۶- بارهای متابولیکی
۱۳۵	۳-۳-۶- تنفس تخمیری
۱۳۸	منابع
۱۴۳	فصل هفتم
۱۴۳	افزایش مقیاس تخمیر آنزیم نو ترکیب
۱۴۴	۲-۷- انواع بیوراکتور یا فرمانتور
۱۴۸	۳-۷- روش های افزایش مقیاس
۱۴۸	۱-۳-۷- صرف انتقال حجمی ($K_L a$)
۱۵۲	۲-۳-۷- بیت توان مصرفی بر واحد حجم (P/V)
۱۵۴	۳-۳-۷- سرعت به پره
۱۵۷	۴-۳-۷- زمان مکمل سازی (t_r)
۱۶۰	منابع
۱۶۳	فصل هشتم
۱۶۳	فرایندهای پایین دستی آنزیم های و ترکیب برای تجاری سازی
۱۶۴	۱-۸- مقدمه
۱۶۴	۲-۸- منابع آنزیم های نو ترکیب
۱۶۵	۳-۸- مراحل فرایند پایین دستی
۱۶۵	۱-۳-۸- جداسازی مواد غیر محلول
۱۶۵	۲-۳-۸- جداسازی محصول
۱۶۶	۳-۳-۸- تخلیص محصول
۱۶۶	۴-۳-۸- پرداخت محصول
۱۶۶	۴-۸- تجهیزات لازم جهت تغلیظ و تخلیص آنزیم نو ترکیب
۱۶۷	۱-۴-۸- عملیات لازم برای جداسازی مواد غیر محلول
۱۶۸	۲-۴-۸- عملیات لازم برای جداسازی پروتئین
۱۶۹	۳-۴-۸- عملیات لازم جهت تخلیص پروتئین
۱۷۱	۴-۴-۸- عملیات لازم در پرداخت پروتئین
۱۷۳	۵-۸- نمونه هایی از نوآوری در فرایندهای پایین دستی

۶-۸	دستاوردهای مولکولی جهت تسهیل در فرآیندهای پایین دستی.....	۱۷۵
	منابع.....	۱۷۸
	فصل نهم.....	۱۷۹
	ارزیابی اقتصادی و محیطی تولید آنزیم نو ترکیب.....	۱۷۹
۱-۹	مقدمه.....	۱۸۰
۱-۱-۹	شبیه سازی فرایند.....	۱۸۰
۲-۹	تحلیل اقتصادی.....	۱۸۳
۳-۹	ارزیابی محیطی.....	۱۸۶
۱-۳-۹	خواص بیوشیمیایی و فیزیکی بروملین نو ترکیب.....	۱۸۷
۲-۳-۹	عوارض جانبی سمیت بروملین.....	۱۸۸
۳-۳-۹	ارزیابی اقتصادی.....	۱۹۰
۴-۹	نتیجه گیری.....	۱۹۳
	منابع.....	۱۹۴
	فصل دهم.....	۱۹۷
	مطالعه موردی: انتخاب بروملین نو ترکیب.....	۱۹۷
۱-۱-۱۰	دلایل استفاده از بروملین.....	۱۹۷
۱-۱-۱۰	خواص بیوشیمیایی بروملین.....	۱۹۸
۲-۱-۱۰	ساختار مولکولی بروملین.....	۱۹۹
۳-۱-۱۰	مکانیسم عمل بروملین.....	۲۰۱
۲-۱۰	بروملین در صنایع غذایی.....	۲۰۲
۱-۲-۱۰	صنعت نان.....	۲۰۲
۲-۲-۱۰	صنعت آبجوسازی.....	۲۰۳
۳-۲-۱۰	صنعت گوشت.....	۲۰۳
۴-۲-۱۰	صنعت شایات.....	۲۰۳
۵-۲-۱۰	صنعت تولید محصولات بر پایه سویا.....	۲۰۴
۳-۱۰	بروملین در صنایع دارویی.....	۲۰۴
۱-۳-۱۰	آثار ضدالتهابی بروملین.....	۲۰۵
۲-۳-۱۰	بروملین به عنوان یک عامل ضد تومور.....	۲۰۶