

ادجوانت با فرآوری مانان

(از مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس)

شامل: تمام مراحل طراحی‌ها، غربالگری، بهینه‌سازی فرایندهای تولید، استخراج و
خالص‌سازی گلیکوپروتئین مانان

ویسنده:

حامد آقا زاده

(کارشناسی ارشد مهندسی داروسازی دانشگاه تهران)

سرشناسه	:	آقازاده، حامد، ۱۳۷۰
عنوان و نام پدیدآور	:	ادجوانت با فراوری مانان (از مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس): شامل انجام تمام مراحل طراحی ها، غربالگری، بهینه سازی فرایندهای تولید، استخراج و خالص سازی گلیکوپروتئین مانان / نویسنده حامد آقازاده.
مشخصات نشر	:	شیراز: کتیبه نوین، ۱۳۹۸.
مشخصات ظاهری	:	۱۶۰ ص.: مصور، جدول، نمودار.
شابک	:	978-622-6804-46-2 : ۳۵۰۰۰۰ ریال
وضعیت فهرست نویسی	:	فیفا
یادداشت	:	کتابنامه:ص.۱۵۵.
موضوع	:	کلویورومایسس مارکسیانوس
موضوع	:	Kluyveromyces marxianus
موضوع	:	خمرها
موضوع	:	st
رده بندی کنگره	:	۶۲۱
رده بندی دیویی	:	۷۹۷
شماره کتابشناسی ملی	:	۵۶۱۰۰۱۹۲



عنوان کتاب:	ادجوانت با فراوری مانان (از مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس)
نویسنده:	حامد آقازاده
ناشر:	کتیبه نوین
نوبت چاپ:	اول ۱۳۹۸
شابک:	۹۷۸-۶۲۲-۶۸۰۴-۴۶-۲
شمارگان:	۱۰۰۰ جلد
سروراستار و صفحه آرا:	علی داودی
چاپ و صحافی:	گاندی
قیمت:	۳۵۰۰۰ تومان

(کلیه حقوق برای انتشارات کتیبه نوین محفوظ است)

پیشگفتار

مطالعات نشان داده که مانان یک فعال کننده NF- κ B، القاکننده اینترلوکین 1 β ، اینترلوکین 6 و TNF- α است. دیواره سلولی مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس می تواند منبع بسیار خوبی جهت استخراج مانان با راندمان بالا باشد. این مخمر از مخمرهای صنعتی غیر سمی و خوراکی بوده و محصولات حاصل از آن نیز می تواند به راحتی در صنایع غذایی و دارویی به کار برده شود. این منبع در مقایسه با منابع شیمیایی و سنتزی به لحاظ طبیعی بودن محصول و همچنین نسبت به سایر منابع مخمري به لحاظ حجم بالای توده زیستی و راندمان بالاتر، از اهمیت بیشتری برخوردار می باشد.

گلیکو پروتئین مانان، تشکیل از پلیمری منشعب از قند شش کربنه مانوز بوده و در لایه خارجی دیواره سلول قرار دارد که قند آن از طریق گروه های اتصال دهنده به پروتئین متصل شده است. مانان از دسته پلیمرهای طبیعی بوده که با داشتن اثر دپو با استفاده از اشکال مختلف (ذرات ریز، محلول و ژل) پلیمری و افزایش سیگنال های کمک تحریکی برای فعالیت بهینه می تواند اثر ادجوانتی داشته باشد.

در این کتاب به منظور بهینه سازی تولید مانان توسط مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس، سه فاکتور اساسی زمان رشد (زمان فرمانتاسیون)، pH و درصد منبع کربنی (گلوکز) در تولید، مورد بررسی قرار گرفتند. لذا برای شناخت و تعیین فاکتورهای تأثیرگذار بر فرایند ابتدا غربالگری و در نهایت مدلینگ و بهینه سازی از طریق نرم افزار DOE و Minotab جهت تعیین سطح پاسخ و به روش بهینه ی باکس بنکن انجام شد. کلیه اطلاعات بدست آمده مورد آنالیز قرار گرفتند.

با توجه به نتایج، مخمر با شرایط بهینه ارلنی در یک فرمانتور بیشترین همزندان بچ و غیرمداوم رشد داده شد و بیشترین میزان زیست توده (Biomass) در ۳۰ ساعت رشد با شرایط بهینه سازی شده و اعمال شرایط لازم و کافی برای رشد، بدست آمد. به منظور شناسایی دیواره سلولی و تولید مانان از بایومس تهیه شده و افزایش کیفیت کار، گلیکو پروتئین مانان با سه روش قلبایی، امولسیفایر و هموزنیواسیون استخراج و سپس عمل خالص سازی به روش Segave روی گلیکو پروتئین صورت گرفت.

نتایج بدست آمده از روش های استخراج و خالص سازی توسط نرم افزار Qualitek-4 و به روش تاگوچی مورد ارزیابی و آنالیز قرار گرفتند، تا بیشترین مقدار مانان خالص شده از هر ۱۰ گرم بایومس به عنوان ادجوانت تهیه شود.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه	۱۷
فصل دوم: ساختار مانان به عنوان عاملی بر ایمنی‌زایی و فراوری آن به عنوان ادجوانت	۲۵
خصوصیات کلی مخمرها (فیزیولوژی، ساختار و نحوه عمل مخمرها)	۲۷
ساختار مولی مخمرها	۲۸
دیواره سلولی	۲۸
غشاء سلول	۳۰
هسته	۳۰
میتوکندری	۳۰
اندامک‌ها و ساختار سیتوپلاسمی	۳۰
رشد و تغذیه مخمرها	۳۱
منبع کربن	۳۲
منبع نیتروژن	۳۳
هیدروژن و اکسیژن	۳۴
مواد معدنی	۳۴
تنظیم‌کننده‌های متابولیکی	۳۵
سینتیک رشد مخمرها	۳۶
مدل‌های سینتیکی رشد سلولی	۳۷
تشکیل محصول در کشت غیر مداوم	۳۸
طبقه‌بندی و فیزیولوژی مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس	۳۸
تاریخچه مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس	۳۹
بیوشیمی و متابولیسم مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس	۴۲
کاربردهای صنعتی مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس	۴۳

۴۵	مانان / مانوپروتئین
۴۵	ساختار شیمیایی
۴۶	ساختار مولکولی
۴۸	کاربردهای مانان / مانوپروتئین
۴۹	فرآیند تخمیر
۴۹	فرآیند تبدیل زیستی در دستگاه فرمنتاسیون یا فرمانتور
۵۰	فرمانتو
۵۱	روش‌های فرمنتاسیون
۵۲	طراحی آرمایش و کاربرد آن در فرآیندهای زیستی
۵۳	طراحی آزمایش‌ها و روش‌های تحلیل آماری
۵۵	نرم‌افزار Qualitek-4
۵۶	فرآیند پایین دستی
۵۶	جداسازی و تخلیص محصولات حاصل از تخمیر
۵۶	سنجش تولید محصول
۵۷	ادجوانت‌ها
۵۸	انواع ادجوانت‌ها
۵۹	بررسی سوابق
۶۵	فصل سوم: فرآیندهای فرمانتاسیون در تولید حداکثر بایومس بهینه با استفاده از مانان
۶۷	۱. فرآیند فرمانتاسیون (تخمیر)
۶۷	الف: فرآیند تبدیل زیستی در ارلن مایر
۶۷	تهیه مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس
۶۷	ساخت محیط کشت YPG
۶۸	تهیه مایع تلقیح
۶۸	تهیه محدودکننده اشباع گلوکز

طراحی شرایط فرمانتاسیون و تعیین بایومس بهینه برای مخمر کلویورو مایسس مارکسیانوس	۷۲
(بهینه‌سازی فرایند)	۷۳
الف) مدلینگ و غربالگری ۱۹ Run	۷۴
ب) آنالیز داده‌ها از طریق ANOVA	۷۶
تأیید صحت غربالگری و تعیین فاکتورهای مهم و مقدار اثر آن‌ها بر فرایند بر اساس چارت و نمودارها	۷۷
ج) تبدیل زیستی در دستگاه فرماتور	۷۷
مشخصات کشت فرماتور بهینه‌سازی شده (افزایش مقیاس)	۷۹
طراحی روش مستمر فرماتور	۸۰
۲. بهینه‌سازی فرآیندها حاصل از فرمانتاسیون	۸۰
بهینه‌سازی و تعیین Biomass بهینه با استفاده از نرم‌افزار DOE به روش RSM	۸۰
نمودار BOX-COX	۸۱
آنالیز داده‌های جدول آنوال	۸۱
جدول ضرایب حاصل از خروجی مدل	۸۱
رسم نمودار Normal Plot, Residual vs. Predicted, Residual vs. Run, و predicted vs. Actual	۸۱
تهیه نمودارهای Conture برای Desirability	۸۲
نمودارهای Conture برای ریسپانس‌ها	۸۲
نمودارهای 3D Surface برای رأی Desirability	۸۲
نمودارهای 3D Surface برای ریسپانس‌ها	۸۲
خروجی نهایی نرم‌افزار DOE	۸۲
فصل چهارم: فرایندهای استخراج و خالص‌سازی گلیکوپروتئین مانان جهت فرآوری مانان بهینه‌سازی شده	۸۳
طراحی آزمایشات جهت استخراج و خالص‌سازی مانان به روش تاگوچی و با نرم‌افزار	۸۵
QUALITEK-4	۸۸
فرایندهای استخراج	

۸۸	استخراج مانان از دیواره سلولی مخمر
۹۱	فرایند خالص سازی
۹۱	خالص سازی گلیکو پروتئین مانان به روش Seavage
۹۲	روش های آنالیز و تعیین غلظت مانان بعد شکستن دیواره
۹۲	طراحی آزمایشات جهت بهینه سازی فرایندهای استخراج و خالص سازی
۹۲	بدست آوردن شرایط بهینه و پیش بینی مقدار صحیح بهینه پاسخ توسط نرم افزار تاگوچی
	فصل پنجم: بررسی طراحی های انجام شده و آنالیز داده های حاصل از بهینه سازی، استخراج و خالص سازی مانان
۹۵	نتایج کشت های ارلند قبل و بعد از انجام فرایند فرمانتاسیون بر اساس میزان کدورت (OD) و تهیه بایومس ارلندی
۹۷	بررسی جوانه زنی و کشت مخمرهای کشت داده شده در ارلند
۱۰۰	وزن تر بایومس های بدست آمده در کشت ارلندی
۱۰۲	وزن خشک بایومس های بدست آمده در کشت ارلندی
۱۰۳	نتایج مدلینگ Run ۱۹ جهت غربالگری با ۳ نقطه مرکزی
۱۰۴	آنالیز داده های جدول ANOVA
۱۰۶	مقدار تأثیرگذاری ضرایب پارامترهای مؤثر
۱۰۶	Model summary
	تأیید صحت غربالگری و تعیین فاکتورهای مهم و مقدار اثر آنها بر اساس چارت و نمودارها
۱۰۷	بهینه سازی و تعیین Biomass بهینه با استفاده از نرم افزار اصلی DOE
۱۱۰	نتیجه مدلینگ داده ها برای Run ۱۵ جهت بهینه سازی به روش RSM
۱۱۱	نمودار BOX-COX
۱۱۲	آنالیز داده های جدول آنوا
	رسم نمودار Predicted vs. Residual و Residual vs. Predicted، Normal Plot
۱۱۳	Actual
۱۱۶	تهیه نمودارهای Conture برای Desirability