

تخلیص پروتئین

(با روش های بیولوژیکی)

Protein Purification

تألیف:

Amersham Pharmacia Biotech

ترجمه:

پروفسور-دکتر عظیم اکبرزاده

(استاد انستیتو پاستور ایران)

مهندس دنیا پوی دکتر مهدی ارجمند مهندس مهشید محمدی



عنوان و نام پدیدآور : تخلیص پروتئین با روش های بیولوژیکی / تألیف
(شرکت دارویی امرشام) ؛ ترجمه عظیم اکبرزاده خیای و { دیگران }

مشخصات نشر : تهران - عظیم اکبرزاده خیای، ۱۳۹۴

مشخصات ظاهری : ۱۳۱ صفحه، مصور، جدول، نمودار.

شابک : ۹-۳۴۶۱-۰۴-۶۰۰-۹۷۸

وضعیت فهرست نویسی : فیپا

یادداشت : ترجمه عظیم اکبرزاده، دنیا پوی، مهدی ارجمند، مهشید محمدی

موضوع : پروتئین - تهیه، دستنامه های آزمایشگاهی

شناسه افزوده : شرکت تولید مواد دارویی امرشام

شناسه افزوده : Amersham Pharmacia Biotech

رده بندی کنگره : ۳۱۳۹۴ ت / ۵۱ (P)

رده بندی دیویی : ۵۴۷/۷۵

شماره کتابشناسی ملی : ۳۹۳۶۲۵۵

نام کتاب : تخلیص پروتئین با روش های بیولوژیکی

مؤلف : Amersham Pharmacia Biotech

مترجمین : عظیم اکبرزاده، دنیا پوی، مهدی ارجمند، مهشید محمدی

تاریخ انتشار : خرداد ۱۳۹۴ (چاپ اول)

مشخصات نشر : تهران، عظیم اکبرزاده خیای

شمارگان : ۱۰۰۰ جلد

قیمت : ۳۰۰۰۰ تومان

چاپ و صحافی : تهران، عظیم اکبرزاده خیای

طراحی جلد، صفحه آرایی و ویراستاری : دنیا پوی

بسمه تعالی

پیشگفتار:

با آنکه می دانید به کجا می خواهید برسید، اگر مسیر درستی
انتخاب نکنید ، هرگز به مقصد نمی رسید.

"جان ماکسول"

در اغلب تحقیقات بیوشیمیایی تخلیص پروتئین دارای نقش کلیدی
است . با افزایش نیاز به تعداد زیاد پروتئین های خالص در بیولوژی
مولکولی ، هندسی ژنتیک ، بیوتکنولوژی ، ژنتیک پزشکی و علوم پایه این
موضوع از اهمیت بیشتری نیز برخوردار می شود. برای رسیدن به
تخلیص پروتئین ، ماسه های روش انتخاب بهترین عملکرد ، با توجه به
نیازها ، برای به حداکثر رساندن عملکرد و به حداقل رساندن تعداد
مراحل مورد نیاز می باشد. کروماتوگرافی یکی از بهترین گزینه های
کاربردی در تخلیص پروتئین است از این ، کروماتوگرافی به عنوان یک
ابزار ضروری در هر آزمایشگاهی برای تخلیص پروتئین لازم به نظر می
رسد. البته با توجه به پیشرفت های چند دهه اخیر در زمینه مهندسی
ژنتیک و بیوتکنولوژی ، به کارگیری DNA نوتریب در خالص سازی
حجم زیادی از پروتئین ها نقش به سزایی داشته است . اما با این وجود ،
آگاهی از چند تکنیک ساده کروماتوگرافی می تواند تا حد زیادی در
خالص سازی پروتئین برای تحقیقات بیولوژی کارساز باشد اما از آنجا که
دانش و تجربه محققان و دانش پژوهان جوان در این زمینه بسیار
محدود می باشد تصمیم به تهیه مجموعه حاضر پس از تهیه و
گردآوری کتاب (کاربرد تخلیص پروتئین با روش عملی) را گرفتیم تا
بتوانیم شما عزیزان را هرچه بهتر و بیشتر هدایت نماییم. در مجموعه

حاضر ، در قالب فصل های مختلف ، به تفصیل به شرح روش های مختلف تخلیص با روش های ساده ، آماده سازی نمونه، بافرها، ستون ها و انواع مختلفی از کروماتوگرافی شامل کروماتوگرافی تبادل یونی ، کروماتوگرافی واکنش آب گریز، کروماتوگرافی تمایلی و ... پراخته شده است.

امید است به فضل الهی، مجموعه حاضر بتواند مشعلی پر فروغ، در مسیر پر بخت و خم حصول علم، برای شما ره پویان علم و دانش باشد و ما را نیز در رسیدن به هدف غایی حیات یعنی کمال مدد رساند.

و من اله توفیق

دنیا پوی

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱۳	فصل اول : روشهای تخلیص - یک روش ساده
۱۵	- آماده سازی
۱۶	- سه فاز فرآیند تخلیص
۱۷	- راهنمایی برای تخلیص
۱۹	فصل دوم : مواد سرری
۲۱	- مرحله ابتدایی
۲۱	- توضیح اهداف
۲۳	- توضیح خواص پروتئین مدف و ناخ صی های بحرانی
۲۵	- تعیین خلوص آنالیتیکی
۲۶	- استخراج نمونه و شفاف سازی
۳۱	فصل سوم : فرآیند تخلیص
۳۳	- اصول اولیه
۳۴	- انتخاب و ترکیب تکنیک های تخلیص
۴۲	- شرایط نمونه
۴۵	فصل چهارم : جذب
۴۷	- حذف آلاینده های مخرب
۵۰	- Sepharosexl (IEX)

- ۵۰ - Sepharose IEX با دانه‌های درشت
- ۵۱ - STREAMLINE (IEX, AC, HIC)
- ۵۱ - Sepharose (IEX, HIC) با جریان سریع
- ۵۷ فصل پنجم: تخلیص میانی یا بینابینی
- ۵۹ - به کارگیری تکنیک‌های مختلف برای کاهش تعداد مراحل
- ۶۱ - Source (IEX)
- ۶۱ - سفارز با (IEX, HIC, AC)
- ۶۱ - سفارز با (IEX, HIC, AC)
- ۶۳ فصل ششم: تصفیه و اصداف نهایی
- ۶۵ - بکارگیری تکنیک‌های متعدد
- ۶۷ - فیلتراسیون یا ژل
- ۶۸ - ذرات تک IEX
- ۶۸ - Source ۱۵ (IEX, HIC, RPC)
- ۷۱ فصل هفتم: مثالهایی از تخلیص پروتئین
- ۷۲ - مثال ۱: سه مرحله تخلیص یک آنزیم فتوترکیب
- ۷۷ - مثال ۲: تخلیص قسمت باندشده یک آنتی ژن نوترکیب
- ۸۲ - مثال ۳: دو مرحله تخلیص یک آنتی بادی مونوکلونال
- ۸۵ - مثال ۴: یک مرحله تخلیص برای پروتئین داخل غشایی
- ۸۹ فصل هشتم: شرایط نگهداری نمونه
- ۹۱ - پیشنهاداتی برای نمونه‌های بیولوژیکی

- ۹۲ - توصیه‌هایی برای پروتئین‌های خالص شده
- ۹۲ - روشهای استخراج و شفاف سازی نمونه
- ۹۴ - بافرها و افزودنی‌ها
- ۹۵ - دترجنت‌ها
- ۹۶ - شفاف سازی نمونه
- ۹۹ - رسوبدهی اجزا
- ۱۰۳ - ناب بستر گسترده
- ۱۰۵ - فصل دوم اصول شرایط استاندارد برای تفکیک های تخلیص
- ۱۰۷ - کروماتوگرافی تبادل یونی
- ۱۰۸ - انتخاب تبادلگر یونی
- ۱۰۹ - ظرفیت و حجم نمود
- ۱۰۹ - انتخاب محیط
- ۱۱۰ - آماده سازی نمونه
- ۱۱۰ - آماده سازی ستون
- ۱۱۱ - آماده سازی بافر
- ۱۱۱ - روش عمل
- ۱۱۲ - کروماتوگرافی واکنش آب گریز
- ۱۱۳ - انتخاب لیگاند آب گریز یا هیدروفوبیک
- ۱۱۴ - حجم و ظرفیت نمونه
- ۱۱۵ - انتخاب محیط

- ۱۱۵ - آماده سازی نمونه
- ۱۱۶ - آماده سازی ستون
- ۱۱۷ - آماده سازی بافر
- ۱۱۸ - روش عمل
- ۱۱۹ - کروماتوگرافی تمایلی یا (AC)
- ۱۲۰ - ظرفیت و حجم نمونه
- ۱۲۰ - انتخاب محلول
- ۱۲۰ - آماده سازی نمونه
- ۱۲۱ - آماده سازی ستون
- ۱۲۱ - آماده سازی بافر
- ۱۲۱ - فیلتراسیون با ژل
- ۱۲۲ - حجم و ظرفیت نمونه
- ۱۲۲ - انتخاب محیط
- ۱۲۳ - آماده سازی بافر
- ۱۱۴ - کروماتوگرافی فاز معکوس
- ۱۲۵ - انتخاب لیگاند هیدروفوبیک یا آب گریز
- ۱۲۶ - ظرفیت و حجم نمونه
- ۱۲۶ - آماده سازی ستون
- ۱۲۶ - آماده سازی بافر
- ۱۲۶ - روش کار

- ۱۲۷ - جذب بستر گسترده
- ۱۲۸ - انتخاب جاذب STREAMLINE
- ۱۲۸ - انتخاب حجم و ظرفیت نمونه
- ۱۲۹ - آماده سازی نمونه
- ۱۲۹ - آماده سازی ستون
- ۱۲۹ - آماده سازی بافر
- ۱۲۹ - ...

توسعه تکنیک ها و روش ها برای تخلیص پروتئین، پیش شرط لازم برای بسیاری از پیشرفت های ایجاد شده در بیوتکنولوژی بوده است. این کتاب ، پیشنهاد و مثال هایی برای تخلیص پروتئین به روش ساده فراهم می کند. تخلیص پروتئین متفاوت از یک روش ساده رسوبدهی یا فرآیند های تولید قانونی در مقیاسی بزرگ است. اغلب ، برای رسیدن به خصوص موردنظر بیش از یک مرحله تخلیص لازم است. کلید موفقیت و کارآمدی تخلیص پروتئین، انتخاب مناسب ترین روش ، بهینه سازی عملکرد با توجه به نیازها و ترکیب آنها در یک راه منطقی برای به حداکثر رساندن عملکرد و حداقل رساندن تعداد مراحل مورد نیاز می باشد. بیشترین طرح های به کار رفته در خالص سازی شامل انواعی از کروماتوگرافی می شود. در نتیجه ، کروماتوگرافی به یک ابزار ضروری در هر آزمایشگاهی تبدیل شده است. نه برای تخلیص پروتئین لازم است. دسترسی به تکنیک های مختلف کروماتوگرافی با گزینش های متفاوت ، ترکیب قدرتمندی را برای خالص سازی بیومولکول فراهم می سازد. توسعه DNA نوترکیب در طول دهه گذشته ، در تولید پروتئین به مقادیر زیاد، انقلاب بزرگی ایجاد کرده است. با آن وجود ، همه چالش ها برطرف نشده است. هنوز هم مشکلات مربوط به الایسه های میزبان ، حلالیت ، یکپارچگی ساختار و فعالیت های بیولوژیکی می تواند وجود داشته باشد. اگرچه ممکن است به نظر برسد که پارامترهای زیادی برای اندازه گیری و بررسی موجود است، اما با چند دستور العمل ساده و کاربرد سه استراتژی تخلیص پروتئین، و تنها داشتن آگاهی و دانش ابتدایی از جزئیات تکنیک های کروماتوگرافی ، این فرآیند به سادگی قابل برنامه ریزی و انجام است.