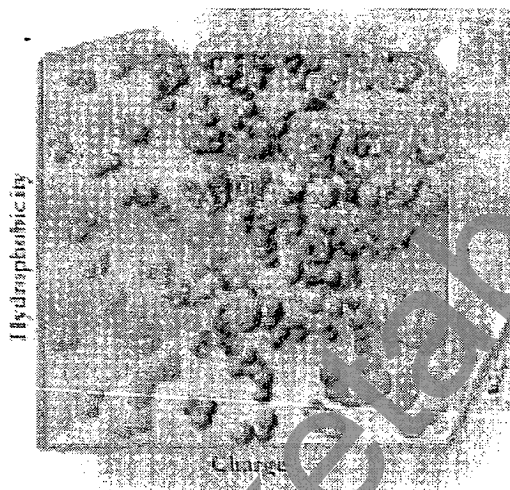


تخلیص پروتئین



مترجمان:

دکتر عظیم اکبرزاده

استاد انستیتو پاستور ایران

دکتر مهدی ارجمند

دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب

مهندس مهشید محمدی

عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت

مهری مرتضوی

کارشناس ارشد ایمونولوژی انستیتو پاستور ایران

عنوان و نام پدیدآور	: تخلص پروتئین/ مترجمان عظیم اکبرزاده... [و دیگران].
مشخصات نشر	: تهران : عظیم اکبرزاده، ۱۳۹۱.
مشخصات ظاهری	: ۱۱۷ ص.: مصور، جدول، نمودار.
شابک	: 978-964-0490-54-9
وضعیت فهرست نویسی	: قیفا
یادداشت	: عنوان اصلی: Protein Purification Handbook, 2001.
یادداشت	: مترجمان عظیم اکبرزاده، مهدی ارجمند، مهشید محمدی، مهری مرتضوی.
یادداشت	: کتابنامه.
موضوع	: پروتئین -- تصفیه
شناسه افروده	: اکبرزاده خیاوی، عظیم، ۱۳۲۴ -، مترجم
رده بندی کنگره	: ۱۳۹۱ ت/ ۵۵۱ QP۵۵۱
رده بندی دیویی	: ۵۴۷/۷۵
شماره کتابشناسی ملی	: ۳۰۰۴۹۴۵

تاریخ درخواست : ۱۳۹۱/۰۹/۱۲
تاریخ پاسخگویی :
کد پیگیری : 3003974



تخلص پروتئین

تیراژ: ۱۰۰۰ نسخه

چاپ اول: ۱۳۹۱، تهران

قیمت: ۴۵۰۰۰ ریال

چاپ: سب

ناظر فنی چاپ: علیرضا سمیعی

حق چاپ و انتشار محفوظ و مخصوص نشر کلبه سینا می باشد.

پیشگفتار

توسعه روش‌ها و تکنیک‌های تخلیص پروتئین در بسیاری از کارهای بیوتکنولوژی یک پیش‌نیاز است. این کتاب توصیه‌ها و مثال‌های با ارزشی برای مسیر هموار تخلیص پروتئین در اختیار قرار می‌دهد. تخلیص پروتئین از مراحل ساده تا مراحل معتبر با مقیاس بزرگ متغیر است. اغلب بیشتر از یک مرحله تخلیص برای رسیدن به خلوص بالا مورد نیاز است. برای تخلیص آسان و کارای پروتئین باید از مناسب‌ترین روش‌ها استفاده کرد و انجام آن را بسته به نیاز مطلوب ساخت و مراحل تخلیص را به ترتیبی منطقی برای افزایش محصول و به حداقل رساندن تعداد مراحل مورد نیاز اعمال کرد.

اغلب طرح‌های تخلیص شامل نوعی از کروماتوگرافی است. در نتیجه کروماتوگرافی روش متداولی در آزمایشگاه‌هایی است که در آنها تخلیص انجام می‌شود. در دسترس بودن روش‌های مختلف کروماتوگرافی با انتخاب‌های متفاوت، ترکیب قوی برای تخلیص هر بیومولکولی را در اختیار قرار می‌دهد.

ایجاد DNA نو ترکیب انقلابی در تولید پروتئین‌ها در مقیاس بزرگ ایجاد کرده است. پروتئین‌ها حتی می‌توانند به شکلی تولید شوند که تخلیص کروماتوگرافی بعدی آنها را تسهیل کند. اگرچه این کار نیست. آلودگی‌های ناشی از میزبان در اینجا مشکل‌ساز است و مشکلات مرتبط با محلول‌سازی، کامل بودن ساختار و فعال بودن بیولوژیک هنوز وجود دارد.

اگرچه مسائل زیادی وجود دارد که باید توجه شود، در این کتاب با مثال‌های ساده و به روش تخلیص ۳ مرحله‌ای فرآیند تخلیص به وضوح طراحی خواهد شد که تنها با دانش پایه‌ای از اصول و جزئیات کروماتوگرافی به سادگی و آسانی قابل اجرا است.

Azimakbarzadeh@pasteur.ac.ir

عظیم اکبرزاده

پائیز ۱۳۹۱

فهرست مطالب

پیشگفتار

فصل اول

روش‌های تخلیص: یک روش ساده

آماده سازی ۲

سه مرحله فرآیند تخلیص ۳

راهنمای تخلیص پروتئین ۴

فصل دوم

آماده سازی

مرحله ابتدایی ۸

تعیین اهداف ۸

تعیین خصوصیات پروتئین هدف و ناخالصی‌های اصلی ۱۰

تعیین خلوص آنالیتیکی ۱۲

استخراج نمونه و شفاف سازی ۱۳

فصل سوم

فرایند سه مرحله‌ای تخلیص

اصول اولیه ۱۸

انتخاب و ترکیب تکنیک‌های تخلیص ۲۰

شرایط نمونه ۲۷

فصل چهارم

جذب

- حذف آلاینده های مخرب ۳۲
- Sepharose XL (IEX) ۳۵
- Sepharose IEX با دانه های درشت ۳۳
- STREAMLINE (IEX, AC, HIC) ۳۳
- Sepharose (IEX, HIC) جریان سریع ۳۶

فصل پنجم

تخلیص میانی یا بینابینی

- به کارگیری تکنیک های مختلف - به حداقل رساندن تعداد مراحل ۴۴
- Source (IEX) ۴۶
- سفارز با عملکرد بالا (IEX, HIC, AC) ۴۶
- سفارز جریان سریع (IEX, HIC, AC) ۴۶

فصل ششم

تصفیه و اصلاح نهایی

- بکارگیری تکنیک های متعدد در هر مرحله ۵۰
- سوپردکس GF (ژل فیلتراسیون) ۵۲
- MonoBeads (IEX) ۵۳
- Source 15 (IEX, HIC, RPC) ۵۲

فصل هفتم

مثال هایی از تخلیص پروتئین

- مثال ۱: ۳ مرحله تخلیص یک آنزیم نو ترکیب ۵۶
- مثال ۲: تخلیص قسمت باند شده یک آنتی ژن نو ترکیب ۶۰
- مثال ۳: ۲ مرحله تخلیص یک آنتی بادی مونوکلونال ۶۵
- مثال ۴: یک مرحله تخلیص پروتئین داخل غشایی (پروتئین های اینتگرال) ۶۸

فصل هشتم

شرایط نگهداری نمونه

- ۷۴ پیشنهاداتی برای ذخیره نمونه‌های بیولوژیکی
۷۵ توصیه‌هایی برای پروتئین‌های خالص شده
۷۵ روش‌های استخراج و شفاف سازی نمونه
۷۶ بافرها و افزودنی‌ها
۷۸ دترجنت‌ها
۷۹ شفاف سازی نمونه
۸۲ تخلیص با روش‌های رسوب‌دهی
۸۸ جذب بستر گسترده

فصل نهم

اصول و شرایط استاندارد برای تکنیک‌های تخلیص

- ۹۰ کروماتوگرافی تبادل یونی IEX
۹۱ انتخاب تبادلگر یونی
۹۲ ظرفیت و حجم نمونه
۹۴ انتخاب محیط
۹۴ آماده سازی نمونه
۹۴ تهیه ستون
۹۵ آماده سازی بافر
۹۵ روش عمل (به ترتیب اولویت)
۹۷ کروماتوگرافی واکنش آگریز (HIC)
۹۸ انتخاب لیگاند آب گریز (ئیدروفوبیک)
۹۸ حجم و ظرفیت نمونه
۹۸ انتخاب محیط
۹۸ آماده سازی نمونه
۱۰۰ تهیه ستون
۱۰۰ آماده سازی بافر
۱۰۱ روش کار (به ترتیب اولویت)
۱۰۳ کروماتوگرافی تمایلی (AC)

	ظرفیت و حجم نمونه	۱۰۴
	انتخاب محیط	۱۰۴
	آماده سازی نمونه	۱۰۴
	تهیه ستون	۱۰۴
	آماده سازی بافر	۱۰۴
	ژل فیلتراسیون (GF)	۱۰۶
	حجم و ظرفیت نمونه	۱۰۶
	انتخاب محیط	۱۰۷
	آماده سازی نمونه	۱۰۷
	آماده سازی بافر	۱۰۹
	روش کار	۱۰۹
۱۱۱	کروماتوگرافی مرحله معکوس یا RPC	
۱۱۱	انتخاب لیگاند هیدروفوبیک یا آب گریز	
	ظرفیت و حجم نمونه	۱۱۱
	انتخاب محیط	۱۱۲
	آماده سازی نمونه	۱۱۲
	آماده سازی ستون	۱۱۲
	تهیه بافر	۱۱۲
	روش کار	۱۱۲
۱۱۴	جذب بستر گسترده یا EBA	
۱۱۵	انتخاب جاذب STREAMLINE	
۱۱۵	انتخاب حجم و ظرفیت نمونه	
	آماده سازی نمونه	۱۱۵
	آماده سازی ستون	۱۱۵
	آماده سازی بافر	۱۱۵
	روش کار	۱۱۵
۱۱۶	رزین MEP HyperGel	
	روش کار	۱۱۶

فصل اول

روش‌های تخلیص: یک روش ساده

آماده سازی ۲

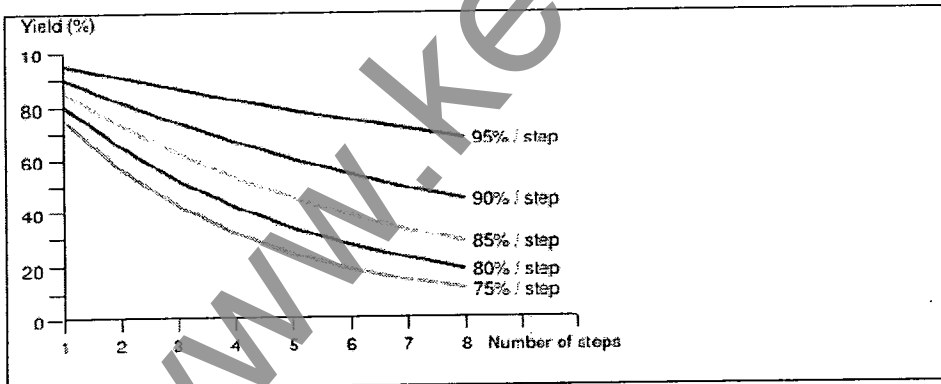
سه مرحله فرایند تخلیص ۳

راهنمای تخلیص پروتئین ۴

www.ketab.ir

مقدمه

اولین قدم توضیح مقدمات و اساس تخلیص می‌باشد. اغلب پروتیکل‌های تخلیص به بیش از یک مرحله برای رسیدن به سطح مطلوب خلوص نیازمند می‌باشند. هر مرحله در فرآیند باعث می‌شود که قسمتی از محصول را از دست بدهیم، به عنوان مثال اگر بازدهی ۸۰٪ در هر مرحله فرض شود، این مقدار به ۲۰٪ کل بازدهی پس از ۸ مرحله تخلیص کاهش می‌یابد همانطوریکه در شکل ۱ نشان داده شده است. در نهایت برای دستیابی به بازدهی و خلوص مورد نظر در حداقل مراحل و ساده‌ترین طراحی، ضرورتی ندارد که یک مرحله به مراحل دیگر اضافه شود، مگر اینکه خلوص کامل مورد نظر باشد. اما مطالعات و تجربیات نشان می‌دهد که حتی در موارد خاص، خلوص و بازدهی بالا در کمتر از ۴ مرحله بدست خواهد آمد.



شکل ۱: نتیجه مراحل متوالی تخلیص

آماده سازی

برای دستیابی به پروتئینی که از لحاظ اقتصادی، بازدهی، خلوص و مقدار قابل قبول باشد الزاماً تخلیص صورت می‌گیرد. ضروری است که هدف از خلوص مشخص شود. همچنین مقدار، فعالیت بیولوژیکی، ملاحظات اقتصادی و زمان لازم برای انجام عمل تخلیص باید بررسی شود و تمام اطلاعات در برگزیده خصوصیات پروتئین هدف و ناخالصی باشد. برخی آزمایشات برای تعیین مشخصات نمونه و مولکول هدف به کار می‌روند. آماده سازی نمونه و تعیین روشهای استخراج قبل از اولین مرحله کروماتوگرافی باید صورت گیرد.