جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

عنوان تحقیق :

جدا سازی محصولات

طبیعی آبزی

www.kandoocn.com
www.kandoocn.com
www.kandoocn.com

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

پیشگفتار :

اقیانوس ها در جهان بیش از ۷۰٪ سطح زمین را می پوشانند و دارای بیش از ۲۰۰۰۰۰ بی بهره و گونه های جلبکی هستند . این ارگانیسم ها در جوامع پیچیده و در ارتباط نزدیک با دیگر ارگانیسم ها زندگی می کنند . چه به صورت ارگانیسم های ماکرو (مانند جلبک ، اسفنج ، نرم تنان پوشش دار و یا به صورت میکرو (مانند باکتریهای غیررشته ای ، قارچ ها و آکتینوفایست). بعضی از ارگانیسم ها مواد شیمیایی خود را از منابع غذایی به دست ,ی آورند اگر چه مابقی آنها ترکیبات را دوباره سنتز می کنند . بعضی از ترکیبات ی توانند توسط میکرو ارگانیسم های مربوطه تولید شوند در حالی که مابقی آنها جهت تولید به یک ارتباط بین میزبان و میکرو ارگانیسم نیاز دارند . مواد شیمیایی یک نمونهٔ خاص می توانند تحت تأثیر زیستگاه و عوامل فصلی و جغرافیایی باشد. در حقیقت منشاء واقعی بیوژنتیکی سنتز محصولات طبیعی آبزی ـ در جامعهٔ این محصولات یک موضوع مورد بحث است.

به علت تنوع ارگانیسم های آبزی و زیستگاهها ، تولیدات آبزی طبیعی طبقات شیمیایی زیادی را احاطه می کنند (مانند ترین ها) شیمیکیمات ها ، پلی کتیو ها ، استوژنین ها ، پپتیدها، آلکالوئیدهای ساختارهای متفاوت و یک دامنه ای از ترکیبات بیوسنتز مخلوط ،

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

در دهۀ گذشته به تنهایی ، ساختارهای بیش از ۵۰۰ محصول طبیعی دریایی به چاپ رسیده اند.

در بسیاری از موارد طبقۀ ترکیب موجود در ارگانیسم می تواند بر اساس طبقه بندی ارگانیسم منبع پیش بینی شود . متأسفانه حتی شناخت علم به طبقۀ ترکیب همیشه ما را در جهت تعیین یک ساز خالص سازی هدایت نمی کند . مجموعه هایی از محصولات طبیعی آبزی می توانند دارای چندین عامل شیمیایی باشند (مانند $oso_3 - Na - Oac -$ $och_3 - oh$) . هرگونه تغییر در عامل می تواند تغییر اساسی در قطبیت ترکیبات ایجاد کند بنابراین روش مورد نیاز برای خاص سازی نیز تغییر خواهد یافت . به عنوان مثال نمونه های اسفنج ته دریایی با جنس Spomhosorites دارای آبیس (ایندول) آلکالوئید است. تاپستین (طرح ۱) ، ساده ترین ترکیب این مجموعه میتواند با کروماتوگرافی هر ژل سیلیکا با استفاده از مخلوطهای $ckcl_3$ - Meoh به عنوان شوینده ، خالص گردد . در الگاسیدین d (طرح ۲) ک دارای یک زنجیرۀ جانبی . ۲- آمینو ایمیدازول است که خیلی قطبی تر است وبه کروماتوگرافی بر فاز ثابت فاز معکوس و شسشه شدن با مخلوطهای اسید استونیتریل ـ آب ـ تری فلوئرواستیک (TFA) نیاز دارد . دراین حالت علم به طبقۀ ارگانیسم می تواند در تعیین ساختار ترکیبات خالص کمک کند ولی

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

در تعیین روش عالص سازی برای متابولیست قطبی تر که دارای یک عاملیت شمیایی غیر منتظره است کمکی نمی کند.

به منظور دسترسی به بینشی در مورد روش هایی که بیشتر در خالص سازی محصولات طبیعی آبزی استفاده می شوند ۱۱۵ گزارش از این محصولات که در سال ۱۹۹۵ در روزنامهٔ انجمن شمیمدانان آمریکا ، روزنامهٔ شیمی آلی ، تتراهدرون و روزنامهٔ محصولات طبیعی به چاپ رسیده بودند مورد بررسی قرار گرفتند . هر نشریه به طریق زیر طبقه بندی می شود:

۱- شاخه ارگانیسم منبع .

۲- طبقهٔ ترکیبات شیمیایی گزارش شده.

۳- روش حفظ ارگانیسم (تازه / منحصر در مقابل خشک فریز کردن) .

٤- روش استخراج " غیر قطبی " حلال هایی مانند : CH_2, CL_2 ، هگزان ها ، استون ، $ETAO_2$ ، Eto_2 ، تولئون ، اترنفت ؛ " غیر قطبی و الکل " هر یک از مواد فوق مخلوط با یک الکل ؛ " الکل " معمولاً اتانول ، متانول ، و یا ایزوپروپانول ؛ " طرح پیچیده " ؛ مانند استخراج متوالی و یا مخلوطهای غیر معمول خیلی پیچیدهٔ حلالها با " آبی " ۱۰۰٪ آب یا مخلوطهای آب دیگر محلولها در حالی که آب بیش از ۵۰٪ مخلوط را شامل باشد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۵- روش مورد استفادهٔ تقسیم حلال در صورت وجود این روش ها به طبقات زیر تقسیم می شوند :

الف ـ " ساده " مانند یک تقسیم تک مرحله ای (مثل یوتانول ـ آب) و یا تقسیم دو مرحله ای مانند ETOAC ـ آب) و به دنبال آن تقسیم بعدی فاز آبی با یوتانول.

ب) " کوپکان " شامل هر طرح واقعی ویا تغییر یافتهٔ کوپکان (Kypchan) که در آن درصد فاز آبی به طور متوالی تنظیم می شود.

ج) " پیچیده " (کمپکس) : شامل هر طرحی که در آن یک توالی غیر معمول حلال ها و یا مخلوطهای کمپکس غیر معمول حلال ها استفاده می شوند مانند :

مخلوطهای هیپتان : ETOA : MEOH : $CHCL_3$: ACOH

که در جدا سازی با تزلیوین ها استفاده می شوند.

٦- نوع کروماتوگرافی ستون باز ، درخششی ویا ستون خلاء. این ها به ژل سیلیکا ، فازهای پیوندی (مانند CN,Did, C-8 DDS) ویا نفوذ ژل بر رزین های غیر عاملی تقسیم می شوند من جمله سیستم های کروماتوگرافی تقسیم و اندازه ه مانند (Sn-8 , sn- ، Bibeadssx-20 ، Nsbels ، SephadenLh- 60 ، SephadenLH- 20 4 ، 2 – AMBERLIT EXAD ، XAD ، XAD- 7 ، ژل S…G3- TSK-) .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۷- نوع روش HPLC مورد استفاده در صورت وجود ـ این ها بـه فـاز طبیعـی ،فـاز معکوس (C-18 , C – 8, C-4) دیگر فازهای پیوندی ماننـد : (NH_2 , CN, DIOL) وموارد تقسیم می شوند که در آنها ترکیباتی از مثالهای فوق استفاده گردند.

۸- کروماتوگرافی مایع فشار میـانی (MPLc) ، کرومـاتوگرافی جریـان مخـالف (CCC) ، و کروماتوگرافی لایۀ نازک تدارکاتی (PILC)کدام یک استفاده می شوند.

۹- آیا هر یک از روش های دیگر نیز استفاده می شوند (مانند ترم سـازی و بلـور سازی ، تبادل آنیون / کاتیون ، فراصافی) .

نتایج این بررسی در جداول ۳-۱ ارائه شده اند . جدول ۱ : توزیع ترکیبـات را در شـاخه ها نشان می دهد.

جدول ۲ – رایج ترین روش های خالص سازی شاخه های متفاوت رانشـان مـی دهـد .

جدول ۳ – رایج ترین روش های خالص سازی را برای طبقات ترکیبات نشـان مـی دد.

تعدادی از نتایج حاصل عبارتند از :

۱- نگهداری نمونه ها :

در ۷۷ ٪ گزارشات مواد تازه و منجمد استخراج شـدند در ۲۳ ٪ گزارشـات از ارگانیسـم قبل از استخراج خشک فریز شد و یا در هوا خشک گردید.(دو نمونه) .

۲- استخراج :

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

رایج ترین حلال های استخراج عبارت بودند از الکل ها (٤٦ ٪) و یا مخلوطهای الکل و حلال های کم قطبی تر (۲۵ ٪) .

۳- تقسیم سازی :

هیچ تقسیم حلالی در ۲۸ ٪ موارد استفاده نشد تقسیم های ساده در ٤١ ٪ زمان انجام شدند. طرح های کوپکان (kychan) در ۲۵ ٪ زمان و طرح های کمپکس در ۵۰ ٪ زمان استفاده شدند.

٤- کروماتوگرافی ستونی (VCC) ، درخششی ؤ و یا جاذبهٔ باز) :

الف) در ۱۰ ٪ روندهای جداسازی از هیچ شکلی از کروماتوگرافی ستون باز استفاده نشد.

ب) در ٦۵ ٪ جداسازیها از فازهای ثابت ژل سیلیکا استفاده شد.

ج) در ۱۲ ٪ جداسازیها از فازهای ثابت فاز پیوندی (مانند CN1, DIOL , ODS) استفاده شد .

د) در ۱۰ ٪ جداسازیها ازفازهای ثابت ،فاز پیوندی و ژل سیلیکا استفاده شد(یعنی مراحل چندگانه کروماتوگرافی ستونی استفاده گردید) .

ذ) در ٤٦ ٪ جداسازیها از کروماتوگرافی تراوش ژل بر رزین های غیر عاملی استفاده شد. LH – 20 در ٤٢ ٪ جداسازیها استفاده گردید .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ر) در ٤٤ ٪ جداسازیها فقط فازهای ثابت ، فاز معکوس و یا سیلیکا استفاده شد (بـدون کروماتوگرافی)

ز) در ١٣ ٪ جداسازیها فقط از رزین های غیر عاملی استفاده شد مانند Sephadeax Lh – 20 ،

خ) در ٣٣ ٪ جداسازیها از ترکیب کروماتوگرافی فاز پیوندی و یاسیلیکا وکروماتوگرافی بر رزین های غیر عاملی استفاده شد.

٥- MPLC در ٩٠ ٪ مطالعات استفاده شد.

٦- CCC در ٧٠ ٪ مطالعات استفاده شد .

٧- PTLC در ١٠ ٪ مطالعات استفاده شد.

٨- HPLC :

الف) در ٢٧ ٪ جداسازیها از HPLC استفاده نشد.

ب) در ٦٠ ٪ فقط فازهای ثابت فاز نرمال استفاده شد . (مانندسیلیکا) .

ج) در ٤٩ ٪ فازهای ثابت ، فاز معکوس استفاده شد. (PR-18, PR-8, PR-4)

د) در ١٠ ٪ جداسازیهای چندگانه HPLC بر فازهـای ثابـت ، فـاز معکـوس و طبیعـی استفاده شد.

ذ) در ٣ ٪ دیگر فازهای پیوندی استفاده شدند . (NH_2 , DIOL , CN).

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ر) در ١٤ ٪ مطالعات از دیگر روش های جداسازی استفاده شد مانند فرم سازی ، بلورسازی ، فراصافی و یا کروماتوگرافی تبادل آنیون / کاتیون .

۱-۱ : روش کلی مورد استفاده در HBOI :

این فصل یک طرح کلی است از روش کلی مورد استفاده در آزمایشگاه مؤلف جهت خالص سازی کردن محصولات طبیعی دریایی. یک طرح در شکل ۱ آمده است . در روش ها تمام جداسازیها در یک مقیاس کوچک انجام می شوند تا این که ترکیب خالص به طور تکرار پذیر جدا شود. تعدادی روش خالص سازی برای تضمین جداسازی مقام ترکیبات مورد نظر استفاده می شوند و مقام اجزاء یا سنجض زیستی ، ILC- و یا HPLC ، NMR شناسایی می گردند . روند کلی ما شامل مراحل زیر است :

١- جمع آوری و شناسایی میدانی ارگانیسم آبزی.

٢- استخراج اولیهٔ ارگانیسم .

٣- سنجش بیولوژیکی عصارهٔ اسخراجی.

٤- تقسیم جهت تأیید و غنی کردن فعالیت زیستی .

٥- تعیین قطبیت محصولات طبیعی موجود در عصارهٔ و یا derplicatixn ترکیبات معلوم.

٦- انتخاب اولین مرحلهٔ کروماتوگرافیک بر اساس قطبیت.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۷- کروماتوگرافی بیشتر.

۸- توسعهٔ جداسازی یک HPLC درصورت امکان .

۹- افزایش مقیاس جداسازی برای آزمایش بیشتر بیولوژیکی و یا تشخیص ساختار.

۲- جمع آوری و ذخیرهٔ ارگانیسم های آبزی .

۲-۱ ـ کنترل ارگانیسم های آبزی :

ارگانیسم های آبزی منبع هزاران محصول طبیعی مختلف هستند . بسیاری از این ترکیبات در سیستم های پستانداران بی نهایت سعی بوده اند. به عنوان مثال پالی توکسین که در ابتدا در زوآنتید Palythoa toxica یافت شد یکی از مهمترین ترکیبات غیر پروتئینی کشف شد تا امروز می باشد . حوض جزر ومدی که در آن زوآنتید رشد می کند در شرحهای اولیه سعی تشخیص داده شد و دانشمندانی که با آن ارگانیسم کار می کردند بیمار شدند وعلائم شبیه آنفلونزا در طی مرحلهٔ جمع آوری وکارهای بعدی دیده شد.دیگر ترکیبات مانند میکا لامبد وآپلی سیاتوکسین بی نهایت مشکل ساز بودند آپلی سیاتوکسین همچنین دارای ویژگیهای قوی توسعه دهندهٔ تومووری است. به طور کل هنگام کار با هر ارگانیسم جدید ایمن تر آناست که فرض کنیم مقدار دقیق ترکیبات آبزی باید احتیاط و دقت کافی مبذول شود . وسیلهٔ محافظی مناسب مانند دستکش و یاحفاظ چشم بایدهمیشه استفاده شود. بسیاری از محققان (مانند خود مؤلف) مواردی از

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ناراحتی شدید چشم داشته اندکه در کلی جمع آوری ارگانیسم ها به وجود آمده بود این در حالی بود که هیدروژنها واسفنج هایی مانند : VeoF : bularia , Tedania ignis heitangere دارای مؤلفه های آزار دهندهٔ زیادی هستند که باعث خارش و تشکیل دانه در بعضی افراد می گردند. به طور نمونه یک رویارویی با اسفنج NEOF : bularia به تنهایی می تواند محققانی را که در آزمایشگاه مؤلف کار می کنند بر آن دارد تا همگام کار یا نمونه ها از دستکش استفاده کنند . قویاً توصیه می شود که هنگام شنا و استفاده از لولهٔ مخصوص تنفس یرای ارگانیسم ها از دستکش مناسب استفاده شود. اینجا می تواند از یک لباس مرطوب (یا پوست غواصی) و یا دستکش استفاده نمود ماسک های غواصی می توانند حافظ شخص باشند وشیشه های ایمنی ویا عینک های آفتابی می توانند حافظ شخص باشند برای کار در آزمایشگاه و جهت استفاده از ترکیباتی با خواص بیولوژیکی مجهول باید از اصول استاندارد تبعیت کرد . باید مراقب باشید که در معرض مستقیم ترکیبات قرار نگیرید هنگام ضرورت دستکش بپوشید ، با استفاده از هودهای شیمیایی کار کنید از تماس ترکیبات با پوست جلوگیری کنید ، از نمونه ها قورت ندهید و آنها را به طور مستقیم بو نکنید . اگر به دلایلی نمونه را باید بو کنید (مؤلف توصیه می کند که این کار را نکنید) از موارد احتیاطی شیمیایی طبیعی استفاده کنید وبخار را در جهت بینی خود به حرکت در آورید تا از مقدار آسیب کاسته شود.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

اگر عصاره ها ، اجزاء و یا ترکیبات خالص بر زمین می ریزند باید بلافاصله آنجا را پاک کنید در غیر این صورت ممکن است دیگر افراد در معرض آن ترکیب قرار بگیرند .حتی یک قطرهٔ کوچک یک ترکیب مانند میکلامید (Myclamideya) یک ماده ای است که بی نهایت آزار دهنده است . باعث تورم فوری پوست می گردد ، می تواند در صورت تماس با پوست بی نهایت مشکل ساز باشد . اثرات بلند مدت رویارویی با اینترکیبات مانند پیدایش تومور و تراتوژیستی در بسیاری از این ترکیبات ثابت نشده اند. بنابراین باید از رواورویی با آنهاجلوگیری کنید. به طور خلاصه تمام نمونه ها و عصارههای آبزی را با احتیاط یررسی کنید از وسایل پوششی مناسب استفاده کنید در معرض مستقیممواد قرار نگیرید . این امر در مورد ارگانیسم خام وعصاره ها و اجزای حاصل از آنهاصادق است.

۲-۲ :جمع آوری :

فلسفه های متفاوتی در مورد این نکته وجود دارد که کدام ارگانیسم جالبترین مادهٔ شیمیایی تولیدات طبیعی آبزی را به دست می دهد و بسیاری از گروههای دخیل در غربال مقیاسی بزرگ عصاره های آبزی جهت کشف داروها فراوان جمع آوری می شوند تا بتوان بالاترینتنوع شیمیایی را برای آزمایش در آنزیم ویژه و یا سنجش های زیستی مبنای گیرند. پیوندی به دست آورد دیگر گروههایی که وجود دارند زمینهٔ مواد شیمیایی

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

محصولات طبیعی گروههای خاص که غنی از محصولات طبیعی هستند تخصص دارند . هنوز گروههای دیگری هستند که به ارگانیسم هایی توجه دارند که در انها یک دلیل اکولوژیکی برای تولید ترکیبات یافت می شود . اسفنج ها ویا نرم تنان پوشش دار یا سطوحی آزاد ارگانیسم های رسوب کننده می توانند ترکیباتی تولید کنند که از رسوب ممانعت به عمل می آورند ارگانیسم هایی با روکش و پوشش نازک اغلب غنی از متابولیست های ثانویه می باشند وپیشنهاد شده است که این ترکیبات برای مهار رشد ارگانیسم های مجاور تولید می شوند و بدین ترتیب به ارگانیسم هایی پوششش دار و boring اجازه می دهند که در فضای اضافی و بیشتری کولونی بدهند .ارگانیسم هایی که در مناطق گیاهخوار ویا شکار وجود دارند اغلب ترکیبات سعی و یاغیر خوراکی تولید می کنند که برای جلوگیری از شکار می باشند . در نهایت انتخاب ارگانیسم جهت جمع آوری به سطح تجربه و اولویت جمع کننده و هدف نهایی برنامهٔ تحقیق بستگی دارد .

جمع آوری ارگانیسم ها باید به دقت انجام شود ونکات مربوط به عرض جغرافیایی ، طول جغرافیایی ، عمق ، جریان، امواج ، دمای آب ،میزان شوری وتاریخ جمع آوری باید ثبت شوند.نکات مربوط به زیستگاه . مجوعه (مانند تپه های دریایی) حفرات ،زیر سنگ ها ، در جانب انتهایی صخره ها ،که بر سطوح و جلویی سنگ ها و یا بر سطح

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

دیگر ارگانیسم ها) و هر بر هم کنش مشاهده شد با دیگر ارگانیسم ها (که با برهنهٔ آبشش تغذیه می شوند.) با سیانوفیت ها رشد می کنند ، در حاشیه ها به علت ارگانیسم مجاور می میرند) باید ثبت شوند . توصیفات دقیق ارگانیسم ها مانند رنگ ، ریخت ، سازگاری ، وجود معکوس ، بود وحالت تولید مثل ، باید در صورت آشکار شدن ثبت شوند . عکس deckside , Insitu برای ارزیابی بعدی در امر طبقه بندی مهم است . وجود ارگانیسم های مربوطه در داخل و خارج باید مورد توجه قرار می گیرد. اغلب رایجاست کرم ها ، جانوران نرم تن ، پاروپایان ، ستاره های کننده ، شقایق های نعصانی ، و حتی ماهی های کوچکی که در بی مهرگان بزرگ دریایی زندگی کشف شوند . اپیفیت ها . زوآنتید ها تا حد زیادی در رابطه با بی مهرگان کم تجربه نمی توانند بر مواد شیمیایی موجود اثر بگذارند . در بسیاری از موارد جمع آوری کنندگان کم تجربه نمی توانند تمام ارگانیسم های مربوطه راشناسایی کنند بلکه یادداشت های تفصیلی میدانی و شواهد آماده شدهٔ دقیق می توانند به فرد طبقه یندی کنندهٔ با تجربه و بیولویست میدانی کمک کندد تا در امر شناسایی ارگانیسم های مربوطه های بعدی موفق گردند.

نمونه های شواهدی باید برای تکمیل شناسایی گردآوری شوند.این شواهد برای مستند کردن یک اختراع در صورت بایگانی یک ثبت اختراع لازم هستند این نمونه ها باید نمایشگر کل نمونه باشند اگر رنگ و یا شکل های متفاوت یک نمونه جمع آوری شوند

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

شواهد هر یک باید نگهداری شوند. اگر نمونه ها کوچک هستند یک نمونهٔ کاملی در صورت امکان باید حفظ شود در آزمایشگاهها نمونه های با 40ml تا 100 پارچ متناسب هستند واین به شکل نمونه بستگی دارد. به طور نمونه ، اسفنج ها یابرش یک قطعه ای که ساختار درونی وبرونی و شکل کلی ارگانیسم را نشان می دهد به شکل یک نوع شواهد در می آیند. اسپیکول هایی که در شناسایی بیشتر خانواده های اسفنج ها مهم هستند. می توانند در یک محل گرد آیند و مشخص شوند و لازم است که مقام بخشهای اسفنج به صورت یک نمونه در آیند. به علاوه یک نمونهٔ واحد می تواند یک اجتماعی باشد که در آن یک اسفنج در سطح دوم قرار می گیرد . یک مثال اسفنج Myriastra kalitetilla , carribbean می باشد که به شکل یک اسفنج شیار دار کروی بایک بخش خارجی نارنجی مایل به قرمز و یک بخش درونی کرم رنگ یافت می شود. سطح قرمز به علت تجمع پوستهٔ خیلی نازک توسط یک Desmacella SP می باشد. استخراج لایهٔ سطح قرمز یک دنبالهٔ متفاوتی از ترکیبات تولید می کند و با استخراج بخش درونی کرم رنگ اسفنج نمونه های اسفنجی معمولاً در اتنول آبی ۷۰ ٪ ذخیره می شوند (30ml آب در هر ۷۰ لیتر اتانول ۱۰۰ ٪) . Octocoral ها و مرجان های سخت می توانند همانند اسفنج ها به صورت یک نمونه در آیند.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

نرم تنان پوشش دار و ارگانیسم های نرم تن دیگر مانند آلوسیوناسیان ها ، شقیق نعمانی ، حلقویان و بعضی از ستاره های شکننده) سخت تر نهداری می شوند . این ارگانیسم ها قبل از نگهداری بلند مدتدر حالت رخوت و آرامش قرار می گیرند . و به این ترتیب بعد از نگهداری روز باز باقی می مانند این عملکرد با قرار داد نمونه در آب دریا که دارای چند بلور متانول است انجام می شود. این نمونه بعد از آن در یک یخچال به طور ٢٤ ساعته ذخیره می شود . (در صورت امکان) و بعد آب دریا به آهستگی ریخته می شود . نرم تنان پوشش دار به طور دائم در محلول فورمالین ۱۰ ٪ ذخیره می شوند . این محلول باتر دقیق محلول فرومالید استحکام کامل (۳۷ ٪) به دست می آید (1ML محلول فرمالئد در هر 9ML آب) در حالی که دیگر بی مهرگان نرم تن (آلسوناسیان ها ، شقایق یمانی ، ستاره های شکننده) می توانند برای همیشه در اتانول ۷۰ ٪ نگهداری شوند. نرم تنان کولونی می توانند به سختی شناسایی شوند زیرا به سختی نگهداری می گردند . ارزش آن را دارد که به مراحل دقیق نگهداری مستقیماً از سوی متخصص طبقه بندی که نمونه ها را شناسایی خواهد کرد دست یابیم . ژله ماهی ها و بسیاری از خارپوستان بعد از رخوت با متانول در محلول فرمالین ۱۰ ٪ نگهداری شوند. این ها در اغلب شکل خود را به سرعت از دست می دهند و بنابراین سند تصویری می تواند مهم باشد جلبکها به عنوان نمونه های خشک شده با فشار ذخیره نگهداری می شوند ولی می

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

توانند در محلول فرمالین ۵ ٪ نیز ذخیره شوند. اگر یک نفر تصمیم بگیرد که نمونه ها را به آزمایشگاهی داخل یک هواپیمای تجاری برگرداند حمل و نقل مقادیر با اتانول مجاز نمی باشد. در این موارد نمونه ها می توانند در فرمالین ۱۰ ٪ ذخیره شوند. (هر چیزی به جزء جلبک ها) و یا در فرمالین ۵ ٪ حفظ می شوند تا این که به آزمایشگاه برگردانده شوند. در آزمایشگاه ما ، وقتی سفر هوایی مورد نیاز باشد نمونه ها در کیسهٔ نمونهٔ Whipak قرار می گیرند ؛ محلول ۰ ٪ فرمالین . اینها بعد از آن برای حمل و نقل در قوطی های حمل و نقل خشک قرار داده می شوند. آنها به محض برگشت به آزمایشگاه می توانند برای ذخیرهٔ طولانی به محل نگهداری مناسب منتقل شوند. مقام مجوعه های ارگانیسم آبزی همانند تمام نمونه هایی که برای تحقیق پیرامون محصولات طبیعی جمع آوری می شوند باید با رضایت ایالت و یا کشور میزبان ساخته شوند . اجازه برای بیشتر جمع آوریهای ارگانیسم های آبزی الزامی است و باید تحت قوانین فدرال و یا داخلی باشد. بعضی از گونه های آبزی توسط CIIES حفظ شوند و نمی توانند بدون اجازهٔ ویژه جمع آوری شده صادر شوند . یک بررسی توسط باکر و دیگران بیانگر فلسفه های کلی و خط مشی های لازم باتوجه به جمع آوری ارگانیسم های آبزی و خاکی می باشد.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۳-۲ : ذخیرهٔ ارگانیسم های آبزی :

ارگانیسم های آبزی اغلب در محل های متروکی جمع آوری می شوند که تسهیلات آزمایشگاهی محدودی دارند . بسیاری بلافاصله در رویایی با هوا می میمرند و به سرعت تجزیه می شوند. ترکیبات یافت شده در ارگانیسم ها می توانند به سرعت با فرآیندهای اکسیداسیون ، آنزیمی و یا پلیمریزاسیون تجزیه شوند بنابراین ارگانیسم ها باید بلافاصله خشک شوند و یا منجمد گردند تا تخریب شیمیایی کاهش یابد. ترکیبات موجود در بعضی ارگانیسم هامانند اسفنج های Verongid می توانند بلافاصله هنگام لمس تخریب شوند و پلیمر می کردند. این با تغییر رنگ سریع از سفید و زرد و یا نارنجی به آبی تیره قابل مشاهده است حتی وقتی که آنها در آب دریا حفظ شوند.

بسیاری از گروههای ارگانیسم ها را بلافاصله بعداز جمع آوری در 20c– منجمد می کنند و آنها را درحالت انجماد نگه می دارند تا این که عملکرد بیشتر انجام شود. در بعضی واردارگانیسم ها در یک الکل قرار می گیرند مانند متانول ، اتانول و یا ایزوپروپانول . بعد از آن ارگانیسم حفظ شده در دمای اتاق و یا در یک فریزر نگهداری می شود. بعضی از ارگانیسم ها و جلبک ها اغلب در معرض هوا خشک می شوند و سپس در دمای اتاق ویا در فریزر ذخیره می شوند. تا اقدامات بعدی صورت گیرد . اگر تسهیلات موجود دردسترس باشند نمونه ها می توانند بلافاصله بعد از جمع آوری

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

خشک فریز گردند وسپس در دمایی اتـاق و یـافریزر ذخیـره شـوند .یـک گـروه کـه در آزمایشگاه میدانی با تسهیلات محدود کار می کرد ارگانیسم را بـه مـدت ۲٤ سـاعت در ETOH-H_2O / ۵۰ –۵۰ فرو برد. این محلـول بعـد از آن قـارچ شـد . ارگانیسـم هـا در پلیمرهای Nalgene قرار گرفتند و به آزمایشگاه وطن برگردانده شده ودر دمـای محـیط قرار گرفتند.

در گروه ما ، ارگانیسم ها به صورت تصویری مستند شدند ، یـک نمونـهٔ طبقـاتی گرفتـه شده ، یک زیر نمونه برای استخراج انتخاب شد و نکات مربوط به جمـع آوری و طبقـه بندی ثبت شدند وسپس مابقی نمونه جهت کار بیشتر ۲۰- درجهٔ سانتیگراد منجمد شـد. تلاش های زیادی صورت گرفت تا نمونه در عرض ۱ ساعت جمع آوری در فریزر قرار گیرد . اینکار برای کاهش تخریب ترکیبات بوده است . وقتی چنین چیزی عملـی نباشـد نمونه ها ذخیره می شوند تا آزمایش کامل گردد .

۳- استخراج

۳-۱ : بی مهرگان :

یکطرح استخراجی نمونه برای بی مهرگان آبزی (منجمد ،خشک و یـا خشـک فریـز) : بی مهرگان به قطعات کوچکی برش داده می شوند و در یک مخلوط کن با سرعت زیـاد با حلال مخلوط می گردند. عصاره های حاصل از هر طریق کاغذ صافی شمارهٔ ۱ واتن (

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جاذبه و یا خلاء) ویا بستری از Celite 521 بسته بندی شده و در یک قیف Buchner تصفیه می شوند. بعد از تصفیه مابقی بافت به مخلوط کن برمی گردد وبا یک بخش دوم حلال استخراج می شود . این فرآیند ادامه می یابد تا اینکه هیچ رنگ دیگری استخراج نشود . در حالاتی که عصاره ها بی رنگ گردند . عصاره های متوالی می توانند به طور جداگانه تلغیظ شوند و جرم باقی ماند. بعداز تلغیظ تعیین می شود. استخراج می تواند زمانی کامل در نظر گرفته شود که هیچ باقی ماند ؟ اضافی دیگری بعد از تلغیظ به دست نیاید. هنگام دنبال کردن خالص سازی زیستی ، عصاره های متوالی می توانند به طور جداگانه تلغیظ شده و سنجش شوند. در آزمایشگاه ها نمونه ها ۳ تا ٦ بار استخراج می شوند تا استخراج کامل تضمین گردد .

بعضی از آزمایشگاه ها عصاره های متوالی هر ارگانیسم را با استفاده از حلال هایی باقطبیت بالا آماده می کنند. در این جا مقیاس جداسازی مقدماتی مؤلفه ها مورد نیاز است .ارگانیسم ها ابتدا با یک حلال غیر قطبی استخراج می شوند مانند دی اتیل اتر ، هگزان ،اتیل استات ، و یا یک حلال هالوژنه (دی کلرو متان، کلروفرم) سپس با یک الکل (متانول و یا اتانول)وبعد با آب و مخلوطهای آب ـ الکل استخراج می گردند. بعضی ها گروهها از استون برای استخراج استفادهمی کنند ولی باید مراقب بود که محصول افزایشی تشکیل نشود.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

دانشمندان در ,وسۀ ملی سرطان، مؤسسه ملی بهداشت امریکا، یک برنامۀ وسیع غربال سازی برای محصولات طبیعی دارند تا بتوانند ترکیبات دارای خواص ضد HIV و ضد تومور را کشف کنند آنهایک روش استخراجی توسعه داده اند که در آنارگانیسم منجمد بایخ خشک آسیاب می شود و در H_2O با ٤ درجۀ سانتیگراد استخراج می گردد عصارۀ آبی با سانتریفوژ دفع می شود وخشک فریز می گردد باقی ماند ارگانیسم نیز خشک فریز می شود. تفالۀ خشک بعد از آن به طور متوالی با CL_2 CH_2 Meh به دنبال متانول استخراج می شود .عصاره های آلی در خلاء ترکیب شده و خشک می شوند. عصارههای آلی ترکیبی وآبی بعد از آن برای سنجش و جداسازی بعدی شیمیایی در دسترس قرار می گیرند (به عنوان مثال مراجعه کنید به هالوگ و دیگران { ٢٤ }) .

۲-۳ : جلبک های بزرگ :

بیشتر محققان نمونه های جلبک قهوه ای (Pahanphgta) و جلبک قرمز (Rhodphyta) را قبل از استخراج در معرض هوا خشک کرده فریز می کنند . نمونه های جلبک نیوکالاکاریوس (Chlorophytoy) گاهی اوقاتقبل از استخراج خشک می شوند ولی اغلب مواردچنین نیست . جلبک خشک گاهی اوقات بایک هاون و دسته هاون می شود ویا با Wiley Mill آسیابمی گردد تا از یک الک 2-mm عبور کند ماده آسیاب شده بعد از آن به طور متوالی با حلال هایی باقطبیت بالا هگزان ، دی کرومتان ، متانول ، با

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

استفاده از یک استخراج کن Oxhled استخراج می شود. به طور متناوب ماده خشک ، تازه ویا منجمد شده می توانند با خیس کردن در مخلوط کنی باسرعت بالا استخراج شوند.عصاره ها با نیروی جاذبه با استفاده از کاغذ فلسر چین دار (واتفن شماره ۱) ویا با خلاء با استفاده از یک قیف Buvchney دارای سیلک شیشه ای آبگینه ای تصفیه می شوند .بافت جلبکی دوباره به مخلوط کن بر می گردد و استخراج می شود. در هر دو روش مخلوط کن ویا Sexhlet به هر حال ادامه می یابد . تا این که هیچ رنگ دیگری استخراج نشود .عصاره ها با تقطیرتحت فشار کاهندهٔ بر یک تبخیر کن چرخشی در خلاء تغلیظ می شوند.

۳-۳ – طرح روند مورد استفاده در آزمایشگاه .مؤلف در HBOI :

یک روند سریع مورد استفاده در HBOI جهت تهیه عصاره هایی برای آزمایش بیولوژیکی در زیر آمده است .در این روند ،اتانول به عنوان حلال استخراج استفاده می شوند زیرا مطابق عملکرد سنجش زیستی در آزمایشگاه ها است (که شامل یک باطری پیوند گیرنده وسنجش آنزیم و کل سلول می باشد.) برای تأیید این که اتانول یکحلال استخراج مناسب بوده است . مجموعه ای از ارگانیسم ها با متانول ، اتانول و یا متانول ـ تولئون استخراج شدند ـ ۳:۱ . سرعت های ضربه ای قابل مقایسه برای مقام سه مجموعه عصاره مشاهده شدند و این در حالی بود که در مقابل خط سلول تومور p388

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

، ویروس HSV – I و با توژن خارجی Candida albicans سنجش می شوند .وقتی اتانول بهتر از دیگر حلال ها از این سنجش ها عمل کند حلال استخراجی انتخاب در HBOI خواهد بود .

طرح روند فوق :

۱- تقریباً 8g ارگانیسم منجمد را در 20ml اتانول ۱۰۰ ٪ غیر تاتوره به مدت ۲ دقیقه بااستفاده از یک آسیاب Virtis آسیاب کنید .

۲- باقی ماندۀارگانیسم و عصاره را به شیشۀ کوچک سوسوزن 20ml منتقل کنید و ۲٤ ساعت در ۲۰ ـ درجه سرازیر نمایید.

۳- عصارۀ را بانیروی جاذبه از طریق کاغذ صافی چین دار صاف کنید.

غلظت میانگین عصاره هایی که به این روش تهیه شوند 9mg/ ml با دامنۀ 1-20 mg/ mi می باشد بسته به ماهیت ارگانیسم استخراج شده . ارگانیسم های سخت مانند مرجان های Scleractinian و اسفنج های Lithistid بازده های کلی کمی دارند . عصاره ها در- 20 c – ذخیره می شوند.یک مقایسه TLV عصاره های آماده شده تازه با آنها که با همین روش ۵-۳ سال زودتر تولید شده اند. نشان می دهد که هیچ اختلاف مهمی در مؤلفه های اصلی عصاره ها بعداز ذخیره بلند مدت وجود نداشته است.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

٤- برنامه ریزی برای روش جداسازی :

سیستم جد اسازی مورد استفاده تا حد زیادی به قطبیت ترکیبات مورد نظر بستگی دارد . تعدادی روش برای تعیین قطبیت محصولات طبیعیت موجود در عصاره ها استفاده می شود. روش هایی که در HBOI استفاده می شوند عبارتنداز تقسیم بین حلال های آبی و آلی ، تحلیل کروماتوگرافی لایهٔ نازک با شوینده هایی با قطبیت متفاوت وشناسایی مقیاس کوچک خواص کروماترگرافیک.رفتار ترکیبات فعال بیولوژیکی در هر روش با سنجش زیستی اجزاء حاصل دنبال می شود . یابا بیولوتوگرافیکی مستقیم در حالت TLC .

١-٤ – طرح های تقسیم :

در آزمایشگاهها ، عصاره های بین آب و اتانول تقسیم می شوند در بعضی موارد عصاره ها ابتدا بین اتیل استات و آب تقسیم می شوند و فاز آب بعد از آن در مقابل n– بوتانول تقسیم می شود. ترکیبات غیر قطبی به اتیل استات ، تقسیم می شوند در حالی که ترکیباتی با قطبیت میانی به n– بوتانول تقسیم خواهند شد. متابولیست های محلول در آب معمولاً در فاز آبی باقی می مانند. در بعضی موارد تقسیم بین هگزان و یا هپتان و متانول می تواند برای رفع لیپیدها از مواد قطبی قبل از کروماتوگرافی مفید باشد (لیپیدها معمولا به هگزان و یا فاز هپتان تقسیم می شوند) . تعدادی از گروهها از طرح تغییر

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

یافته کوپکان برای ارزیابی قطبیت ترکیبات استفاده می کنند . این مسلتزم تقسیم متوالی عصاره ها بین حلال های غیر قطبی و محلولهای الکلی آبی می باشد . در مورد عصاره های آبزبی در تفسیر نتایج چنین آزمایشات تقسیمی باید دقت کافی مبذول داشت یک مثالی که این را تشریح می کند خالص سازی مجموعه های دراگاسیدین cl ترکیبات است . تقسیم یک عصاره خام بین اتیل استات و آب باعث فنی شدن با مقادیر کم د راگاسیدین cl به عنوان مولفه اصلی تقسیم اتیل استات می گردد . سنجش زیستی در مقابل پاتوژن قارچی crgrt.coccasnef. rmans باعث فعالیت نسبتآ بالای این سنجش می گرد (غلضت مینیوم بازداری { mIc } = ٦/٢٥ ٪ mj/mL) سنجش زیستی تقسیم آب باعث تولید یک MIC =٥٠ mJ/mL برای این جزء می گردد . براساس یک فعالیت زیستی و توان فرض کرد که ترکیب ضد قارچی نسبتأ به درستی به فاز اتیل استات تقسیم شده است . تحلیل های TLC و NMR دو جزء نشان می دهند که مؤ لفهٔ اصلی فاز اتیل استات در فاز آبی نیز یافت می شود ولی به علت درصد بالای نمک عصاره و و بنابراین درصد نمک فاز آبی ، ترتیب به عنوان یک درصدجزء کلی یافت می شود . در حقیقت فعالیت ترکیب به علت غنی شدن نمک در فاز آبی کاهش یافته است. بنابراین بهترین مسیر خالص سازی این طبقه از متابولیت ها عبارتست از تقسیم عصارهٔ خام بین n ـ بوتانول و آب و یا استفادهٔ مستقیم از کروماتوگرافی ستول خلأ (vcc) هر یک فاز

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ثابت فاز معکوس با استفاده از یک گراویان مرحله ای اسید استو نتیریل ـ آب ـ تری فلوئوراستیک . این مثالی دو قانون را تشریح می کند .

۱ ـ مقایسهٔ تمام اجزاء با TLC ، HPLC، و یا NMR لازم است تا بتوان شباهتهای آنها را فهمید .

۲ ـ در طی خالص سازی با کک سنجش زیستی هرگز یک جزء را خالی نکنید تا این که یک روش تحلیلی در دسترس باشد که ترکیبات فعال را از دیگر ترکیبات مخلوط متمایز می کند . این ترکیبات م یتوانند در دسترس باشند ولی اثرات آنها با دیگر مؤ لفه های مخلوط پوشید ه می شوند . این ب خصوص در مواردی مهم است که ذخیرهٔ ار گاسنیم محدود است و جمع آوری دوباره مشگل است . هیچ یک از نمونه ها نباید تلف شوند .

۲ـ٤ : استخراج فاز جامد :

استخراج فاز جامد فرصتی است برای انجام جدا سازیها یی کروماتوگرافیک خیلی کوچک با استفاده از یک تعدادی فاز ثابت (که در فصل ۱ توصیف شد) دو سیستم جدا سازی که معمولاً توسط این محقق استفاده شد ه اند و برای بیشتر محصولات طبیعی من جمله محصولات طبیعی آبزی مناسب هستند بشرح زیر می باشند .

۱ـ کروماتوگرافی عصاره برژل سیلیکا با استفاده از یک گراویان مرحله ای اتیل استات و یا حلال ها لوژنه (CH_2CL_2 , $CHCL_3$, CL_2CHCH_3) در هگزان و یا هپتان . بعنوان

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

مثال یک مجموعهٔ شستشو عبارت خواهد بود از : هپتان ، اتیل استات ـ هپتان (۳۷/ ۷ :۱) ، اتیل استات ـ هپتان (۱ V/ V : ۱)، اتیل استات ـ هپتان (V/ V ۱ : ۳)، اتیل استات ، اتیل استات ـ متانول (V / V۱: ۱) .

۲ـ یک جدا سازی فاز معکوس با استفاده از یک ژل سیلیکای پیوند ی ۱۸ ـ c . در این حالت ستول با یک گراویانمرحله ای آب ـ متانول و یا آب ـ استو منتریل توسعه می یابد . یک مجموعهٔ از شستشو عبارتست از : ۱۰۰٪ آب ، متانول ـ آب (V/ V۳: ۱)، متانول ـ آب (۱:۱V/V) ، متانول ـآب (V/ V۱: ۳) ، ۱۰۰٪ متانول ، ۱۰۰٪ دی کلرومتان .برای بسیاری از ترکیبات محلول آلی و قطبی (مانند انهایی که یک Rf برابر ۰/ ٦ ـ ۰ / ۵ ۰ در سیستم TLC N ـ پروپانول ـ اتیل استات ـ آب { ۱: ۲ : ۷} دارند که در زیر توصیف شده است خوب است که ٪ ۱ / ۰ TFA بعنوان یک جفت یونی ا ضافه کنیم . این دنباله را حذف می کند و ر جدا سازی نا جور حلقه های دارای نیتروژن مفید است استو نسین دراگا سیدین CL و استنسین آسیرن .

۳ـ ٤ : بیولوتوگرافی :

یک روش عالی برای شناسایی مولفه های زیست فعال من جمله قطبیت آنها بیولو توگرافی است (در فصل ۱ و ۷) . اگر چه رایج ترین شکل اوتو بیوگرافی ترکیبات ضد میکروبی را کشف می کند این روش برای کشف ترکیبات ضد تو موری نیز به کار می

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

رود . در بیواوتوگرافی صفحات لایهٔ نازک عصاره های مورد نظر در مقایس با صفحات آثاری قرار می گیرند که میکرو ارگانیسم های مورد نظر بر آنها تم گذاشته اند . برای بیو اوتو گرافی در مقابل خطوط سلول تو مور، پوشش های آگار استفاده می شوند . صفحهٔ TLC بعد از یک زمان کو تاه انکو باسیون حذف می شود و یا می تواند هر جای خود باقی بماند اگر چه صفحهٔ سنجش برای رشد میکرو ارگانیسم در انکو باسیونه قرار می گیرد . بعد از یک زمان مناسب انکو با سیونه یک منطقهٔ مهار رشد در مقادیر Rf ترکیبات فعال مشاهده خواهد شد . در آزمایشگاه مولف ۳ سیستم لایهٔ نازک برای شناسایی قطبیت استفاده می شوند :

۱ـ برای ترکیبات غیر قطبی : اتیل استات ـ هپتای (۱ : ۱)برصفحات سیلیکا

۲ ـ برای ترکیبات با قطبیت میانی : اتیل استات ـ متانول (۱: ۱۹) برصفحات سیلیکا

۳ـ برا ی ترکیبات محلول الی قطبی : n ـ پروپانول ـ اتیل استات ـ آب (۱ : ۲: ۷) بر صفحات ژل سیلیکا .

۵: کروماتوگرافی ستون :

کروماتوگرافی ستول مرحلهٔ بعدی بعد از تعیین قطبیت مولفهٔ های اعصار است . ترکیبات غیر قطبی معمولاً بر فازهای ثابت ژل سیلیکا کروماتوگرافی می شوند . کروماتوگرافی ستول خلأ و یا کروماتوگرافی در خشش خلأ میتوانند یک جدا سازی اولیهٔ سریع و آسان

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

یک عصار را بدست دهند . این با VCC اضافی و یا HPLC دنبال می شوند . با بسته بندیهای فاز معکوس و ژل سیلیکا هر دو می توانند استفاده شوند .

۱-۵ : کروماتوگرافی ستون خلاء :

در این روش ستون یک قیف Buchnre با یک سیک شیشه ای آبگینه ای با تخلخل متوسط می باشد. یک قطعه از کاغذ صافی بریده شود و متناسب انتهای قیف می گردد. فاز ثابت بعد از آن به داخل آن ریخته می شود. ژل سیلیکای عیار ILC می تواند برای جداسازیهای فاز طبیعی استفاده شود (EM Science Kieselgel 60 H) در آزمایشگاه محقق استفادمی شود. اگر چه جداسازیهای معکوس به بسته های فاز معکوس عیار کروماتوگرافی ستونی نیاز دارند . تعدادی بسته های معکوس به طورتجاری در دسترس هستند ولی گروه محقق بسته های فاز معکوس خود را با استفاده از یک تغییر روش منتشر شده از سوی ایوانزو و دیگران تهیه می کند.

بعد از افزایش فاز ثابت، قیف بر قسمت بالای مخالف قرار می گیرد تا فاز ثابت به طور یکنواخت قرار گیرد ژل سیلیکای فاز طبیعی نیز در نهایت ساکن خواهد شد بسته های فاز معکوس چنین حالتی نخواهند یافت . اگر ارتفاع اضافی ستون مطلوب باشد مادهٔبسته بندی بیشتری در این مرحلهٔ اضافه می شود سپس دوباره tapمی شود تا ستون در حالت سکون قرار قیف بعد از آن در بالای فلاسک خلاء قرار می گیرد و بایک SEAL ،

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

کائوچویی خلاء متناسب می گردد .فاز ثابت دوباره ساکن می گـردد . سـطح فوقـانی بـا استفاده ازیک شیشهٔ کوچک یا بستر دارای بخش انتهای مسطح به پایین برده مـی شـود . باید حاشیه ها نیز به این حالت درآینـد تـا تضـمین شـودکه بسـته بـه طـور یکنواخـت ضخامت دارد . اگر حاشیه به درستی در پایین قرار نگیرید عصاره به راحتـی بـه حاشـیهٔ شیشه می آید و به بستهٔ ستون نخواهد چسبید . با وجود بسته هـای فـاز معکـوس نمـی توان به راحتی سطح فوقانی را کاملاً صاف کرد زیرا بست خیلی شناور ساز اسـت . ایـن بر جداسازی اثر نمی گذارد مادامی که ستون به درستی در پایین قرار گرفته باشد.

بعد از آن ستون با اولین حلال در مجموعه های شویش تعادل مـی یابـد : حـلال کـافی ازستون عبور داد و می شود تا ستون کاملاً مرطوب گردد مـثلاً بـرای یـک سـتون 60-m تقریباً 75-100ml کافی است .قبل از این که ستون خشـک شـود خـلاء را رهـا کنیـد و حلال شویشی را خالی نمایید خیلی مهم است که سـتون در ایـن نقطـه خشـک نشـود . خشک شدن ستونهای فاز معکوس در این نقطه باعـث یخـی شـدن سـتون و سـرعتهای جریان خیلی پایین می گردد. برای جداسازیها بر ژل سیلیکا ، عصاره بـه عنـوان محلـول شوینده به کار میرود اگر در این محلول وارد محلول نشـود یـک مقـدار کمـی از حـلال قطبی تر اضافه می شود تا آن را وارد محلول کنـیم مقـدار خیلـی زیـادی از ترکیبـات و حلالهای قطبی تر نباید اضافه شود این باعث می شود که در اولـین جـزء شستهشـوند و

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

توسط ستون جذب نگردند. باید موادی داشته باشید که به طور کامل در محلـول نسـیتند زیرا می توانند تعلیق شوند و به ستون منتقل کردند. اگر یک مقدار مهمی از ماده محلـول نیست باید:

۱- یک جداسازی قطبیت زبر با تقسیم عصارهٔ بین هپتان / متانول ، $CH_2 \quad CL_2$ آب و یا آب / n- BUOH قبل از VCC انجام دهید.

۲- جداسازی را با یک شوینده قطبی تر آغـاز کنیـد (مـثلاً ۲۵ ٪ اتیـل اسـتات – ۷۵ ٪ هپتان) برای فاز معکوس VCC عصاره اغلب به عنوان یک دوغاب کـه از قبـل در فـاز ثابت جذب شده است استفاده می شود. این عملکرد با حـل عصـاره در متـانول وسـپس افزایش 2-20g فاز ثابت انجام می شود .محلول تکان داد می شود تا اطمینان حاصل کنیم که بسته به خوبی پوشیده شده ات . متانول در خلاء دفع می شود و اولین شوینده (مـثلاً آب) اضافه می شود تا یک دوغاب به وجود آید. دوغاب بعد از استفاده از یک خلاء در ستون به بالای ستونریخته می شود.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

بعد از آنستون با بخش هایی از حلال های با قطبیت کم و زیاد(یک گرادیان مرحله ای) شسته می شود. گرادیانهای مرحله ای مورد استفاده در آزمایشگاه ها عبارتند از :

۱- فازهای ثابت ژل سیلیکا :

۱۰۰٪ هپتان ، ۲۰ ٪ اتیل استات ،۸۰ ٪ هپتان ،٤٠ ٪ اتیل استات ، ٦٠٪هپتان ، ٦٠٪ اتیل استات ، ٤٠٪ هپتان ؤ ۸۰٪ اتیل استات ،۲۰٪ هپتان ،۱۰۰٪اتیلاستات ، ۲۵٪ متانول ، ۷۵ ٪ اتیلاستات ، ۵۰٪متانول، ۵۰ ٪ اتیل استات ، ۱۰۰٪ متانول ، برای ترکیبات کم قطبی مانند بسیاری از ترکیبات حاصل از جلبک قرمز Laurencia یک گرادیان مرحله ای با استفاده از ۲۰٪ مراحل دیکلرد متان در هپتان استفاده می شود.

۲۰ فازهای ثابت ، فاز معکوس (R_p – 18) : h_2o 100% ، H_2o 80% ، 20% استونیتریل (ACN))h_2o 60 % ، 40% ، 60 % CAN ، H_2o 40 % ، H_2o 100 % ، H_2o 80 % ، 20 % ؛ 100 % CAN ، 100 % MEOH ، برای ترکیباتی با عاملیت بازی افزایش ۱۰/ . .٪حجمی TFA می تواند جداسازی را افزایش زیادی دهد.

باید یک خلاء قبل از ریختن هر حلال به ستون در ستون استفاده شود. اگر هیچ خلائی به کار نرود سطح فوقانی ستون می تواند با افزایش حلال شیار عمیقی بردارد.این اثر زیادی بر جداسازی دارد . یک قطعه کاغذ صافی بعداز این که نمونه به کار رفت می توان بر بالای ستون قرار داد و به این ترتیب در کاهش تشکیل مجرا در ستون کمک کرد.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۵- دیگر عواملی که می توانند جداسازیهای تولیدات طبیعی آبزی را پیچیده کنند.

۱-٦ : شک و تردید در مورد طبقه بندی :

اگر چه علم به طبقهٔ ارگانیسم ها همیشه در تبیین بهترین طرح خالص سازی برای متابولیست های جدید مفید نسیت تعیین غیر قابل و ناکامل طبقه می تواند مشکلاتی به بار آورد واین در صورتی است که فرضیاتی در مورد مواد شیمیایی یک ارگانیسم ارائه شده باشند شناسایی بقاتی بسیاری از گونه های به خصوص اسفنج ها ونرمتنان کولونی بی نهایت مشکل باشد در بعضی موارد متخصصان طبقه بندی یک اسفنج را با نام های گونه های متفاوت (و حتی ژل های متفاوت) شناسایی کرده اند. کاربد روش های طبقه بندی مولکولی این زمینه را روشن می سازد ولی در بعضی موارد این امر باعث تغییر نام و طبقه بندی کلی یک ارگانیسم می گردد همان طور که می توان تصور کرد این سابقهٔ مکتوب شیمیایی راپیچیده کرده است. یک مثال اسفنج Verongia aerophoba است که اکنون Paseudoceratira نام دارد. یک تحقیق از بحث های شیمیایی براساس نام جدید شاید نتواند اکثریت مراجع را برای این ارگانیسم که تحت طبقهٔ اصلی به چاپ رسیده اند آشکار سازد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۲-٦ : خالص سازی ترکیبات محلول در آب : اثرات نمک :

محصولات طبیعی آبزی محلول در آب یک چالش حداسازی ارائه می دهند . اینرکیباتباکروماتوگرافی براساس تبادل یون ،وزن مولکولی وجذب سطحی بر رزین های غیر عاملی خالص می شوند. وجودمقادیر زیادی نمک های غیر آلی بیانگر مشکلات مهمی در جداسازی ترکیبات با وزن مولکولی ک می گردد زیرا هیچ روش جهانی ساده برای نمک زدایی ترکیباتی با وزن مولکولی کم وجود نداردو رنمسازی تکراری با متانول ودیگر الکل هامی توانند زمانی مؤثر باشد که ترکیب حلالیت الکلی دارد . در بعضی موارد Sephadexc-10 ؛ Bio-6el p-2 ؛ رزینهای غیر بومی مانند Amberliteexad و یا xaev ، و یا زغال فعال می تواند استفاده شود. جداسازی ترکیبات محلول در آب در فصل ۱۱ بررسی می شود.

یک مثال از جداسازی ترکیب محلول در آب با زون مولکولی کم ۳- آمینو -۱- ۲ آمینو ایمیدازولیل) پروپ -۱- ان(طرح ۳) می باشد که از اسفنج Teichaxinella morchella جدا می گردد اسفنج منجمد به طور کامل با متانول استخراج شد بعد از تغلیظ عصاره متانول بین n– بوتانول وآب تقسیم شد تقسیم آب بر Bio Rpn-70 ، یکرزین ضعیف تبادل یون ، با استفاده از 2% N به عنوان شویندهکروماتوگرافی شد . این کروماتوگرافی باکروماتوگرافی لایهٔ نازک (ژل سیلیکا : H_2o ، Acoh ، BuoH ،n-

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

1 ، 4:1:1) با کشف ترکیب با واکنش با نینهیدرین کنترل شد. در تمام موارد مقادیر کم نمک غیر آلی در ماده باقی ماند و این باعث شد که تعیین مقادیر واقعی زیست فعال غیر ممکن گردد . خوشبختانه در این حالت وجود نمک در نمونه مانع تحلیل NMR ترکیب نگردید.

۳-٦ – پلی آمین ها :

تعدادی ارگانیسم آبزی ،به خصوص اسفنج هادارای آمین های پلیمری کایتونیبا وزنمولکولی بالا هستند که فعالیت هایی در تعدادی سنجش زیستس نشاندادهاند رایج ترین آنها هالی توکسین (طرح٤) است که ابتدا از A mphimedon campressa گزارش شد (قبلاً Haltclona rubens نام داشت) پلی آمینها نیز از Hispidonetrasp- ، cinachyrsp و Desmacidon SP جدا شدند . این اسفنجها دارای یک مجموعه از ترکیبات باوزن مولکولی ۱۰۰۰ تا بیش از 2500am4 هستند .این ترکیبات به سختی دنبال می شوند.با استفاده از رزین های تبادل کایتون وجداسازیهای وزن مولکولی بر LH-20 (برای هال توکسین های حلال در متانول) ویا Sephaden G 200 (ترکیبات محلول در آب) موفقیت هایی به دست آمد CCC با استفاده از n-Bouh/ h2o / acoh / ٤:٤:١ فاز متحرک BUOH و یا n- BUOH / H2o (فاز متحرک n-BOUH) نیز استفاده شدند.فراصافی موثرترین روش خالص سازی هالی توکسین شناخته شد

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

٤-٦ : ترکیبات دارای استر سولفات قطبی :

بسیاری از اگانیسم های آبزی دارای ترکیباتی هستند که عامل استر سولفات دارند. این ترکیبات در تعدادی از سنجش های زیستی آنزیم وپیوند گیرنده فعال بود می توانند به سختی خالص شوند .آنها به عنوان مجموعه ترکیبات نزدیک به هم می باشند که خیلی قطبی بوده و در زمان اسیدی وبازی ناپایدار هستندشاید رایج ترین استر سولفات ، سولفات هالیتسانول (طرح ٥) باشد که ابتدا از Halichondria cf . moorie گزارش شد .این ترکیب همچنین از تعدادی اسفنج های مربوط به Haplosaerid یافت شده است مانند Topsentispp ، Mananthus ciocalyptides، Foliolina SP ، و دو گونهٔ Pseudanynissa به دست آمد. سولفات هالیستانول باکروماتوگرافی متوالی بخش محلول در آب یک عصارهٔ متانول آبی با استفاده از یک ژل TSk G3000s ژل سیلیکا ،و یک فاز ثابت LH-20 ، spehoden خالص شد . اجزاء ضد میکوبی حاصل از جداسازی LH-20 بابلورسازی مجدد ازELOH- H2o بیشتر خالص شدند.

ایناسترهای سولفات استر ول فعالتی هایی در تعدادی از سنجش های پیوند گیرنده وآنزیمنشان دادندو همچنین در غربال ضد HIV که در موسسهٔ ملی سرطان آمریکا انجام شد فعال بودند . یک طرح Dereplication برای این طبقه از ترکیبات توسط کادلینا و دیگران منتشر شد . در این طرح عصاره ها در ۳ سیستم کروماتوگرافی شدند Spehadex

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

6-25 برای وزن مولکولی ،منفذ پهن c4 / ..3 ومنفذ باریک c18 (6-A) اجزاء در نقابل HIV والگوهای فعالیت سنجش شدند در مقایسه با آنهایی که برای سولفات هالیت نـوا مشاهده شد استرول سولفات از ٦ عصاره اسفنج با متانول شسته شدند: h2o (۷/۷ ۲:۱) و Dcreplication سریع این طبقه از ترکیبات راعملی ساختند در آزمایشگاه مولف ILC جهت Derepliation سولفات هایستانول و ترکیبات مربوطه استفاده شـد. یـک عصـاره خام اسفنج و یا تقسیم بوتانول با استفاده از n– پروپانول اتیل اسـتات – آب V/V/V / ۷:۲:۱) به عنوان فاز متحرک کروماتوگرافی شد. این ترکیبات یک RP تقریبی ۵/ . دارنـد و وقتی با ۲۰ / . وانیلین در محلول اسیدسولفوریک بـه دنبـال حـرارت اسـپری زده مـی شوند به رنگ ارغوانی تیره در می آیند .بسیاری از این ترکیبات با یک یون مخالف آمـین ناجور حلقه ای در ارتباط هستند این ترکیبات بعد ازدیده شدن با واکنشگر به رنـگ زرد روشن در می آیند.

تعـدادی از اسـترهای آروماتیـک سـولفات گـزارش شـده انـد. اینهـا عبارتنـداز : ۳٤ – سولفانوباسـتادین ، ۱۳–سـولفات ، ۳۷ ـ آپیلیسـین ، ۳۸ ـ بـیس سـولفاتو سـایکو ـ سیفوتودیکتول a ، ۳۹ ـ وسیفونودیکتولg ، بیشتر اینترکیبات بـا کروماـاتوگرافی مکـرر به LH-20 با استفاده از متانول به عنوان شـوینده ،جـدا شـدند در آزمـایش مابسـیاری از متابولیست های سولفات در فازهای ثابت HI-20 برای ۱۵–۱۰ حجم ستون باقی ماندنـد

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

شستشوی بعدب یک متابولیست فعال از بسته های LH-20 ممکن است شاخص و شانه ای از عاملیت سولفات در مولکول باشد .یک جذب قوی در cm 1250 در طیف IR می تواند ابتدا برای تأیید وجود عامل استر سولفات استفادهشود.

طبقهٔ دیگر ترکیبی که می توانند به سختی خالص شود ساپوتینس یافت شدهدر I – chinoderm ها است تقریباً تمام آلینو درم هایی که تا کنون برسی شده انددارای استرول های پلی هیدروکسینالیته و یا گلکوسیوهای ترپس می باشند که بسیاری از آنها دارای عامل استرسولفات هستند خالص تشریحی است از روند بر استفاده از خالص کردن این متابولیست ها.

حیوانات (1/85 kg)خردشده اند و در H2o خیس گردیدند ۲۱ بار ،۲۷ برای هر یک ۸ ساعت عصاره های آبی ترکیبی ساکن شدند و بعداز سانتریفوژ از یکستون Amberlite xadi ، ۱ کیلوگرم عبور داده شدند. این ستون ابتدا با Il H2o شسته شد وسپس با 2L متانول شسته گردید تا ۳/۲٤ کیلوگرم عصارهٔ خام به دست آید بعد از سانتیفوژ شویش متانول اینعصاره هر یک ستون Sephaden LH-6 بااستفاده از Meoh H2o (۲:۱) کروماتوگرافی شد. 5-ml جزء جمع آوری شد و با ILC کنترل گردید (صفحات n- Si – H2O - HOAC - BUOH ۱۲:۳۵ ، که با سولفات سریک / H2so4 کشف گردید) اجزاء ۲۰۰– ۱۲۵ از LH-20 Sephaden با استفاده از مد فرایند - Ch3 CL3

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

Meoh – h2o (۸ : ۱۳ : ۷)، فاز پایین تر به عنوان فاز ثابت ،به dccc تسلیم شد. اجـزاء دوباره باILC طبق فوق کنترل گردیدند .بنابراین ترکیـب شـدند . اجـزاء اولیـه (۶۱-۱) حاصل از جداسازی dccc با یک جداسازی دوم dccc با استفاده از مد فراینـد ۵ : ۱ : ۳ n-BOUH - Me2 – H2o ، فاز پایین تر بهع نوان فاز ثابت ، بیشتر جدا شدند. اجـزائ با ILC کنترل شدند وسپس بـه HPLC هـر سـتون c18m – Bondapak (30 cm * 7/8 mm) یا MEOG – H2O (۵۵: ۴۵) سـرعت جریـان (5mL / 7 min) تسـلیم شدند E ترکیبات خالص (طرحهای ۹-۶) به دست آیند بازده های به ترتیـب ۲و۲و۶ و ۳ کیلوگرم.

۵-۶ : محلولهای پیچیدهٔ متابیولیست های قطبی : تولومیکالین هـا / کرامبسسـیدین هـا / باتزلادین ها :

مجموعه ای از گوآنیدین ها کمپکس ۵ چرخه ای که بـا یـک اسـید چـرب خطـی هـا ـ هیدروکسی به یک اسپرمیدین ویا واحد اسپرمیدین هیدروکسی وصل شده اند از اسفنج هـای Spiculifel Ptilocaulis ، Hemimyclesp ، Crambecrambe ، Batzella sp ، Monanchora ، arbuscula ، گـــزارش شـــده انـــد و همچنـــین از ســـتاره دریـــایی Formiamonilis ، heffernan , Celerin . اینترکیبات خیلی قطبی هستند مـی توانندبـه شکل مخلوطهایی باشـندکه بهسـختی جـدا مـی شـوند . اکثریـت ترکیبـات دارای یـک

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

کروموفر مهمی که جداسازی HPLc را پیچیده سازد نمی باشند و روش های پیچیدگی خالص سازی باطرح مورد استفاده برای خالص کردن تیلوکالین (طرح ۱۰) استرتیلوکالین ۰ طرح ۱۱) تیومیکالین (طرح ۱۲) ، کرامبسیدین ۸۰۰ (طرح ۱۳) ،کرامبسیدین ۸/٦ (طرح ١٤) ،کرمابسیدین ۹ (طرح ۱۵) و باتزلیدین های a – e o (طرح ١٦) تشریح شد تمام آنها یک مجموعه بزرگ BAH ZELLASP (شکل ۳) را تشکیل می دهند.

عصاره های خام این اسفنج پیوند HI vgp-120 را با CD4 مهار می کنند و تمام جزئ به جزئ شدن با استفاده از این سنجش دنبال می شود اسفنج خشک شدهٔ انجمادی با متانول استخراج می شدو عصاره به طور متوالی با اتیل استات ، دی کلرومتان، و متانول نرم می شود. بخش زیست فعال دی کلرو متان با استفاده از یک محلول متانول / دی کلرو متان / هگزان (۱:۱:۱) بر Srphader lh-2 کروماتوگرافی می شود. اجزاء فعال بعد از آن با استفاده از یک گرادیان متانول / CH2 CL2 / H2o / ACOH از کروماتوگرافی ژل سیلیکا عبور می کنند.

اجزاء با ILC کنترل می شوند و اجزاء مشابه ترکیب می گردند . اینها بعد از آن با PILC و یا کروامتوگرافی تکراری ژل سیلیسیم با استفاده از مخلوطهای پیچیدهٔ حلال بیشتر خالص می شوند مانند استون/ متانول / دی کلرومتان / آب / اسیداستیک :۲/۵ :۳/۵: ۵ :

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۲۰ :۳۰ . دیگر روش های خالص سازی این طبقه از ترکیبات عبارتند از : استفاده از DCCC (n-BUOH- ME2CO – H2O { ۷۵ : ۱۵ : ٤٥} ؛ مد فرایند که با Ilc کنترل می شود { ۲۵ :۱۵ : ٦۰ 8-BOUH-ACOH –H2O ، واکنشگر اسپری در اگند.روف} به دنبال spiculifer ptilocaluis و Hemimycale sp نمونه های p-spiculifel دوباره ارزیابی شدند وشبیه به Batzellasp بودند که توسط پاتیل و دیگران مطالعه شد و طبقه بندی تجدید نظر شد . به علاوه بر وجود این مجموعه از ترکیبات مربوطه در جنس های اسفنجی Batzella ، Crambe ، Monanchora تاوارز و دیگران رابر آن داشت تا یک ارتباط طبقه ای نزدیکتر از آن چه که قبلاص برای اینها گفته شدهبود کشف کند . نشریهٔ اخیر تربات در یک شاخه متفاوت (اکتیودرم ها) و اثر آن به سوالات مربط به طبقه یندی شیمیایی هنوز باید مورد بررسی قرار گیرند .این امکان وجود دارد که ترکیبات جدا شده از ستارهٔ دریایی از یکرژیم غذایی اسفنجی حاصل شده باشند.

٦-٦ : ترکیباتی با خواص کروماتوگرافی حساس به PH – الگالوئیدهای پلی آکریدین:

مجموعه ای از آلکالوئیدهای رنگ روشن پلی آکریدین از اسفنج های آبزی خانوادهٔ Pachosterlidoe ، یک نرم تن غیر شناخته شد و نرم تنان جنس Cyst.dyte و Eudistoma ، جدا شدند . این ترکیبات می توانندبه سختی برفازهای ثابت ژل سیلیا و یا

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

RP-18 جدا شوند زیرا بی نهایت مستعد تغییرات کوچک در PH هستند و این باعث دنباله ای شدن در بسیاری از سیستم های کروماتوگرافی می گردد در خالص سازی ترکیبات از کروماتوگرافی جریان مخالف سانتریفوژی ،رسوب انتخابی بعداز کروماتوگرافی سادهٔ LH-20 و HPLC بر فازهای ثابت آمینو وODS استفاده شد .(شکل ٤) .

یک عصاره متانول – تولئون اسفنج ته دریایی از جنس Dercitus رشد سلولهای لوسمی آبزی P388 را متوقف کرد اسفنج منجمد با متانول و یا دی کلرومتانی که دارای 5 % NH4OH است استخراج شد تا یک عصاره ارغوانی تیره به دست آید . جزء بهجزء شدن عصارهٔ خام با CCC سانتریفوژی با استفاده از (۳ : ۵ : ۵) : Meoh : cH2 cL2 H2o در سیتسین خالصی (طرح ۲۱) به عنوانیک رنگدانه خرمایی تیرهبه دست داد. جزءبه جزءکردن شیوهٔ اجزاء CCC که دارای مولفه های مربوطه ریزی بودند. (تحلیل Ilc , NMR) با استفاده از HPLC بر یک فاز ثابت آمینو با (۱: ٤:٤) :Ch3 . CN MEOH بهعنوان شوینده انجام شد تا نور در ستین به دست آید (طرح ۲۲) . همچنین در سیتامین (طرح ۲۳) در سیتامید (کوآنیامین) (طرح ٢٤) و سیلکودرسیتین (طرح ۲۵) نیز به دست آمد.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

نرم تـن Cystdytes sp منبـع کوآنونیـامین D (طـرح ۲۶) و درسـیتامین (طـرح ۲۴) بودهاست . در این روش خالص سازی ،نرم تن به طور متوالی با هگزان استخراج شد به دنبال آن از (۲:۱) CH2CL2- MEOH استفاده گردید . کروماتوگرافی عصاره خام ترکیبی بر Sephaderul-20 با استفاده از MEOH به عنوان شوینده دو جزء را تولید کرد اولین جزء در یک چسب تلغیظ شد، با CHCL3 شسته شد و در ۴۵ درجهٔسانتیگراد در MEOH حل گردید بعد ازقرار دادن در دمای اتاق یک جامد ارغوانی رسوب کرد . ایـن جامد درآب حل شد و این محلول با NAOH ۱ ٪ تا Ph=9 % بازی شد .در این مرحله یک جامد زردرنگ رسوب کرد که می توانست با HPLC بـر یـک فـاز ثابـت RP-18 ؛ MEOH- H2O (۱: ۲۰) به عنوان شوینده کروماتوگرافی شود تـا کوآنونیـامین D در درسیتامید(طرح ۲۴) تولید شود (طرح ۲۶) . بخش دوم حاصـل از کروماتوگرافی LH-20 در MEOH گرم حل شد و بعد از خنک شدن دی برموشرمیلامین (طـرح ۲۷) بـه عنوان یک رسوب ارغوانی به دست آمد .ویژگیهای اسیدی – بازی این ترکیبات از سوی کارول و کوآر مزیتی در خالص سازی کوآنونیامین های a (طرح ۲۸) ، b (طـرح ۲۹) ، D (طرح ۲۶) استفاده شدند.(شکل ۴) یک نرم تن غیر شـناخته شـده ابتـدا بـا متـانول استخراج شـده و سـپس بـا (۱:۱) CH CL3- MEOH کـه دارای ۱ ٪ از یـک محلـول NH4OH ۳۰٪ است استخراج گردید. این عصار ها در یک باقی مانده آبی ترکیب شده

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

و تغلیظ گردید و این باقی مانده با 1m اسید هیدرولکتریک و اسیدی شد در مقابل CHCl3 تقسیمگردید . فاز آبی با NH4OH ۱۰ ٪ بازی شد و در مقابل کلروفرم تقسیم گردید. عصاره بازی CHCL3 بعد از آن تغلیظ شد و باقی مانده بر یک ستون کارتریج ژل سیلیکا با CHCL3 – MeOH به عنوان شوینده کروماتوگرافی گردید . HPLC اجزاء فعال با استفادهاز یک فاز پیوندی آمینو و / CHCL3 – MEOH (98:2) به عنوان شوینده باعث تولید شرمیلامین b خالص و کوآنونیامین های d گردید.یک جزء نیمه خالص کوآنونیامین A حاصل از جداسای آمینو با یک HLPC بر فاز ثابت سیلیکا با (٤ :٦) CH2CL2 – ETOAC به عنوان شوینده ، بیشتر خالص شد و بدین ترتیب کوآنونیامین A خالص به دستآمده این متابولیست ها نیز از یک نرم تن Chelynotus semeer که نرم تن پوشش دار را می خورد جدا شدند.

۷-٦ – متابولیست های اثر استثنای ـ اسونجیستانین ها :

مجموعه ای از ماکرولیدهای ضد توموری به نام اسپونجیستانین ها از ٤ اسفنج مختلف گزارش شده اند : Spongiasp ، Spirasdrella Spinispirulifera ، Hyrtios altrum ، Cinachyra sp . این ترکیبات به عنوان متابولیت های اثر یافت می شوند . اولین ترکیب در این مجموعه ،اسپونجیتاتین ۱ (طرح ۳۰) از یک Spingia Sp گزارش شد که از جمهوری مالدید جمع آوری گردید .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جدا سازی با راهنمایی سنجش زیستی صورت گرفت و استثنأ پیچیده بود . بیش از Kg ٤٠٠ جرم اسفنج مرطوب پردازش شد و چالش های زیادی برای دانشمندان تولید کـرد . اگرچه جزئیات گزارش شد . تا حدودی ناقص هستند جداسازی بااستخراج اسفنج تـازه و یا منجمدبا استفاده از متانول و به دنبال آن CH_2CL_2-MCOHشروع شد . این عصاره بعد از آن بین متانول – آب ۱: ۹ و هگزان تقسیم گردید و سپس فاز آبی در ۲ : ۳ H_2O – MCOH تنظیم شد و با دی کلرومتان تقسیم گردید . این جزء دی کلرومتان نقطهآغاز بـرای یـک مجموعـه آزمایشـات کرومـاتوگرافی بـود منجملـه مجموعـه ای مراحـل کروماتوگرافی تقسیم و دفع استریک بر ۲۰- Sephadexl H ، کروماتوگرافی تقسیم بر ژل سیلیکا ، و Hplc با استفاده از یک ۲۰Mm-۵ Prepex ، ستون C ۸ که بـا – H_2O – MCOH – MCN (۷ : ۵ : ۵) شسته شد تا ۱۳/۸mg از اسپونجیستاتین بدست آید(بازده ٪ $^{-۷}$ ۱۰ * ۳/٤) .

این ترکیب در مقابل یک زیر مجموعهاز انواع تومور مقاوم شیمیایی بامقـادیر ۵۰ Gl در دامنهٔ $M^{-۱۱}$ ۱۰ * ۳/۵-۲/۵ بی نهایت فعال است .

در جداسـازی اسپونجیسـتاتین ٤ (طـرح ۳۱) جـزء CH_2CL_2حاصـل از ۲٤۰۹ kg Sperasrerlla Spihisp. Rulifch ابتدا بـا HPLCجـدا شـد و در آن از یـک سیسـتم HPLC مقیاس پیلوت برسـتون ژل سـیلیکا ، ۰/۱۵m * ۳ ، اسـتفاده گردیـد و در P ^{si}

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۱۵۰ راه اندازی شد . بعد این عملکرد مجموعه ای از جداسازیهای ۲۰ – Sphadex lH و مراحل مضاعف Hplc بااستفاده از ستونهای بعدی دنبال شد : Merck RP _ 2 ، Prepex-Rp-8، Lichrospher 100 RD-18برای تولید ۱۰/۷mg اسپونجیستاتین ٤ .کوباياستی و دیگران اسپونجیستاتین ۱ (اصولا به نام آلتوهیترین a) رااز اسفنج Hyrtios altumجدا کردند . روند جداسازی عبارت بود از استخراج استون ۱۱۲Kg اسفنج تازه. این عصاره بین آب و EtoAcبافعالیتی که در فاز EtoAc باقی ماند تقسیم شد . کروماتوگرافی تکراری ستونی ژل سیلیکا و Hplcجزءفعال اتیل استات باعث جداسازی ۰/۵ mg اسپونجیستاتین ۱ (آلتوهیترین A) گردیده به علت اختصار ارتباطات ، شرایط کروماتئگرافی دقیق گزارش نشده اند .

فیوستانی و دیگران اسپونجیستاتین ٤ (طرح ۳۱) (سینا کیرولید) رااز یک اسفنج با جنس Cinachyra جدا کردند (شکل ۵) . در این روند ٦/٦ kg اسفنج تازه خرد شد و سپس با اتانول و بعد استون استخراج گردید . عصاره های ترکیبی تغلیظ شدند و سپس بین Et_2oو آب تقسیم گردید . بعد از تغلیظ ، عصارهٔ اتری بین ٪ ۹۰ متانول آبی و هگزان تقسیم گردید . فاز متانول آبی بعد از آن با استفاده از یک گرادیان مرحله ای متانول / آب به عنوان شوینده در معرض کروماتوگرافی درخششی بر یک فاز ثابت ODF قرار گرفت .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

اجزاء فعال حاصل از این جداسازی بعد از آن به طور متوالی بااستفاده از ۳ سیستم متفاوت Hpl کروماتوگرافی شدند : Capcall Pak C18 8G120-5 با شستشوی گرادیانی (50-80 % MeoH / H_2o t/7) ; Cosmosil 5c18-AR با شستشوی ایزوکراتیک بااستفاده از 40% MecN / H_2o (V/V) ، Consmosill 5C18-AR با شستشوی ایزوکراتیک بااستفاده از MCOH/ H_2o(V/V) 70% بازدهٔ نهایی اسپونجیستاتین ٤ عبارت بود از mg ۱/۱ (وزن مرطوب ٪ $^{-5}$ ۱۰*۱/۸)

۸-٦ تولید میکروبی متابولیست های حاصل از بی مهرگان و گیاه :

ماهیت اثر بی نهایت ترکیباتی مانند اسپنوجیستاتین و وجود آنها در ارگانیسم های دیگری که از نظر طبقاتی با آنها مرتبط نیست و از محل های متفاوت جغرافیایی جمع آوری شدند نشان داد که این ترکیبات می توانند یک رژیم غذایی مشترک و یا یک منبع میکرو ارگانیسمی جمعی داشته باشند . بحث در مورد ارگانیسم منبع واقعی بسیاری از ترکیاتی که از بی مهرگان ابزی جدا شده اند ادامه دارد . به طور کل اگر یک محصول طبیعی آبزی یک یا چند معیار زیر را داشته باشد یک منبع میکرو ارگانیسم ترکیب می تواند در شک و تردید واقع شود :

۱- وجود یک ترکیبات در شاخه مضاعف در مواردی که در آنها ارتباط صید / صیاد نمی تواند برای ارگانیسم مشخص شود . جداسازی آلکالوئید های پیریدینوآکریدین

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

مانند درسیتامید (طرح ٢٤) از اسفنج Dercitussp و نرم تن Cysdytesیک نمونه از این است .

۲- شباهت ساختاری ترکیبات با تولیدات میکروبی مشخص . یک مثال از این اکتیناسیرین ۷۲۹ (طرح ۳۲) است که از نرم تن Ecteinascidia turbinarg مشتق شده است این ترکیب از نظر ساختاری شبیه به سافرامیسین aتولید شد ؛ آکتینومیسیت (طرح ۳۳) و ترکیبات مربوطه می باشد .

۳- بازدۀ بی نهایت پایین ترکیب . هر دوی اسپونجیستاتین و آکتیناسیدین ها مثالهایی از این هستند.

استثناها در این قانون ترکیباتی هستند که بیوسنتز نسبتا ساده ای دارند زیرا این امکان وجود دارد که ارگانیسم های متفاوت از نظر فیلوژنتیکی بتوانند تکامل مسیرهای ساده را افزایش دهند . به علت مشکل بودن جدا کردن و کشت میکرو ارگانیسم های آبزی هفریست شکست در کشت یک میکرو ارگانیسمی که ترکیب راتولید می کند نمی تواند دلیل محکمی برای تولید بی مهرگان متابولیست باشد . یک هدف اولیه تحقیق در تعدادی از گروهها عبارتست از تعیین شرایط کشت برای میکرو ارگانیسم هایی که با گیاهان و بی مهرگان آبزی ارتباط دارند . تا این امر صورت پذیرد روش های دیگری برای تعیین ارگانیسمی که مسئوول تولید متابولیست ها است استفاده خواهند شد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تعیین محل ترکیباتی در سلولهای اسفنج توسط تعدادی از گروهها به طور موفقیت آمیز صورت گرفته است. در این تحقیقات ترکیباتدر سلولهای اسفرولوزو کوآنوسیت اسفنج ها یافت شدند . در بیشتر این مطالعات وجود درون همزیستی ها با میکروسکوپی الکترونی و نوری غیر محتمل شمرده شد . بنابراین می توان نتیجه گرفت که این ترکیبات با خود اسفنج تولید شده اند .

انواع سلولی ابتدا با جدایی اسفنج در آب دریای بدون منیزیم و کلسیم (CMF-ASW)و بعد باسانتریفوژ دیفرانسیلی بر یک Ficollناپیوسته (کلرید سزیم) و یا گرادیان Precollجدا شدند . به عنوان مثال تامپسون و دیگران سلولهای Aplyeina Fistularis رابااستفادهاز یک لولهٔ سانتریفوژ ۵۰ml که محلولهای ۵۰ml از ۳۰ ، ۲۵ ، ۲۰ ، ۱۵و٪۱۰ فیکول در CMF-ASWاز پایین به بالا به آن اضافه شد جدا کردند. بعد از سانتریفوژ در ۱۰۰۰ rpm برای یکدورهٔزمانی ، سلولها در رابط بین چگالی های متوالی گرد شدند . آنهابعد از آن با یک پیپت دمیده شدندو بعد از آبکشی سلولها از نظر وجود متابولیت ها استخراج شده و آنالیز گردیدند . به این طریق انواع مختلف سلولهای اسفنجی از مؤلفه های باکتریایی جدا گردید .

یک روش متفاوت توسط باولی و دیگران برای تعیین محل متابولیت های اسفنج lithistid : theonello swinhoei استفاده شد . To Swinhoeiدارای ٤

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جمعیت سلولی مجزاست : سلولهای اسفنج ، باکتریهای تک سلولی هتروتروفیک ، سیاروباکتریهای تک سلولی و باکتریهای هتروفیک رشته ای این اسفنج دارای ۲ ترکیب اصلی است : Swinhplide a (طرح ٣٤) که از نظر ساختاری با سیتو فیکین شبیه است ؛ یک متابولیست سیانو باکتریایی و پپیند ـ ۹۵۱ (طرح ۳۵) که دارای AHMP (۳- آمینو -٤- هیدروکسی -٦- میتل -۸- فنیدلوکتا -۵ ، ۷- اسید (یئنو نیک) یک آمینو اسیدی که شبیه به ADPA است، می باشد و این آمینو اسید در متابولیست های سیاند باکتری کشف شد مانند میکروسیتین ها.

در T.Swinhoei سیانو باکتریها در آکتوزوم اسفنج قرار می گیرند هتروتروفیک رشته ای در آندوروم اسفنج قرار دارند تشریح ناخالص آندوزوم از اکتوزوم به دنبال سانتریفوژ دیفرانسیلی اسفنج تفکیک شده بعث جدایی ٤ نوع سلول می گردد.باکتری رشته ای می تواند با سانتریفوژ در 600g به مدت ۵ دقیقه دانه ای می شود.روشنا در بعد از این سانتریفوژهادارای بیش از ۹۵ ٪ باکتری تک سلولی می باشد. سیانو باکتریها می توانندبا در 1000g به مدت ۷ دقیقه دانه ای شوند تحلیل های NMR , HPLC, TLC انواع سلولی جدا شد . نشان دادند که Swinhelidea در یک جمعیت مخلوط باکتریهای تک سلولی هتروتروفیک قرار داشته است در حالی که پپیند P951 در باکتری هترتروفک رشته ای بوده است .هیچ ترکیبی باسلولهای اسفنجی در ارتبا طنبود.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

در یک روش سوم درتعیین محل متابولیست ها ، سیتومتری جریانبرای جداکردن انواع سلولی اسفنجی Dysidea herbacea استفاده شده p. herdacea شناخته شده دو نوع شیمیایی اسفنج وجود دارد. اولین آنها داریامتابولیست های اشتغالی آمینو اسید پلی کارفیناته و ستر کوئیترپن بوده است. و دومی دارای اترهای دی فینیل پلی پرومسینا ته . یک Becton – Dickinson facsdar به اضافهٔ گروه بندی سلولی برای جداکردن سلولهای سیانو باکتری از سلولهای اسفنجی دردونوع شیمیایی بر اساس فلوئورسانس استفاده شد. تحلیل NMR Gclms نشان دادکه سترکوئیترین،هربادیسدولئید (طرح ۳۶) و اسپیرودیسین (طرح۳۷) در بخش سلول اسفنجی غیر فلوئورسانی قرار داشته اند و ۱۳- دی میتل ایزوردی سیدیین (طرح۳۸) در سلولهای سیانو باکتریایی قرار داشته است .در نوع شیمیایی دوم، ۲-- (۲، ٤ ، دی بروموفنیل) -٤ و٦ دی یروموفنول (طرح۳۹) در جزءسیانو باکتریایی قرار داشته است.

تعدادی از ترکیبات بی نهایت سعی که اصولاً در بی مهرگان دریایی دیده شده اند با باکتریهای آبزی و یا دنیوفلاژرات های مربوط به این ارگانیسم های تولیدمی شوند.تعدادی از مقالات در این زمینه به چاپ رسیده اند.یک فعال اسید اوکادائیک (طرح ٤٠) است و این یک ماده سمی است که از اسفنج Halichondria Okadai

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

گزارش شده است. ایـن بـا دی نـوفلاژرات Pinopnysis sp , prorocentraum lime تولید می شود یکی از عوامل سببی سعی شده صدف ماهی دیاریتیک می باشد.

۷-خلاصهٔبحث :

عواملی مانند عدم قطیعت در شناسایی ارگانیسم منبع ، آلودگی مقطعی بـادیگر ارگانیسـم ها، ماهیت اثر تعدادی از ترکیبات بی نهایت زیست فعال ، رژیم غذایی و سنتز میکروبـی متابولیست ها ،عاملیت های شیمیایی غیر منتظره و متنوع کلـی ارگانیسـم هـای آبـزی و زیستگاهها همگی در ارائه یک تضاد در بین شیمیدانان محصولات طبیعی نقـش دارنـد . برای موفقیت در صنعت شیمیایی محصولات طبیعی آبزی باید شخص هوشمند باشـد و از روش های زیادی برای خالص کردن مندرجات مقام اجزاء استفاده کند.

www.kandoocn.com

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

افزایش مقیاس جداسازی محصولات طبیعی

۱- مقدمه :

اصطلاح افزایش مقیاس در اینجا افزایش بازده محصول تفسیر می شود این نوع افـزایش یا افزایش مقیاس عملکرد و یا افزایش غلظت محصول ماده آغازین به دست مـی آیـد.در مورد ،این فصـل افـزایش مقیاسـی را مـاکزیممی در نظـر مـی گیـرد کـه در یکمحـیط آزمایشگاهی به دست می آید بنـابراین عملیاتهـایی کـه بـه تسـهیلات مقیـاس فرآینـد و کارشناسی مهندسی شـیمی نیـاز دارنـد. مسـتثنی مـی شـوند. ایـن فصـل بـا توجـه بـه متابولیست های ثانویه میکروبی می باشد ولی جنبه های زیادی از جداسازی مـی تواننـد برای محصولات گیاهی به کار روند. اگر چه تسهیلات مقیاسی آزمایشگاهی برای مقیاس های بالتر عملیات در نظر گرفته می شوند. مانند به کار بری حجـم هـای ۵ تـا ۱۰ ،یـک میز کار بـالای750mm بـرای ارتفـاع اسـتاندارد 900mm ارجـح خواهـد بـود .بـرای عملیاتی که به یک دودکش نیاز دارند یک نوع Walkin (یعنی داشتن Benching قابـل حرکت وقابل تنظیم) به همین دلیل توصیه می شـود . فـرض بـرای اسـت کـه تحقیـر کننده10-L و وسایل مربوط به پردازش محتواهای آنهابه مقیـاس مـاکزیمم آزمایشـگاهی راحت می باشد.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

اصطلاح "تولیدات طبیعی " بسیاری از مولکولهای مختلف شیمیایی را که توسط گروههای متفاوت میکرو ارگانیسم ها تولید می شوند در بر می گیرد .این تنوع فرمول بندی فرآیندهای کلی استخراج رامشکل می سازد.با این وجودمعلومات اولیه نسبت به طبقهٔ شیمیایی ترکیب موردنظر، مقایسات مفید را با فرآیند های موجود ممکن می سازد وبدین ترتیب یک روش منطقی آغازین برای خالص سازی به دست می آید.

در دوره های خیلی اصولی چه برای تولیدات درونی سلولی یا خارج سلولی ، پردازش جریان پایین معمولاً مستلزم یک مرحله طبقه بندی به دنبال جذب یک رزین وی ستخراج حلال به دنبال تغلیظ می باشد در هرحالت کروماتوگرافی بیشتر برای حذف ناخالصی ها معمولاً با تلغیظ دنبال می شود پس با بلور سازی وخشک کردن انجمادی جهت تولید محصول نهایی.

به طور نمونه در طی توسعه اولیه ، هر مرحله در فرآیند می تواند یک بازده ۸۰ ٪ داشته باشد بنابراین بعد از ٦ مرحله فقط ٢٦٪ محصول اصلی باقی خواهد ماند .این بیانگر مزیت شروع کار با سطح بالای مواد تا حدممکن می باشد .به علاوه در پردازش آبگوشتهای پرتیتر ، نسبت اتلاف به علت جذب سطحی غیر ویژه و دفع اجزاء کروماتوگرافی ناخالص کاهش خواهد یافت.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

بنابراینا‌گر چه توسعه فرآیند برای جداسازی محصول طبیعی معمولاً مستلزم بهینه سازی عملیات پایین رود است راندمان فرآیند کلی تا حد زیادی با افزایش تیتر محصول درآبگوشت تحقیرکننده در برداشت تسهیل می گردد. مقادیر اولیه یک ترکیب جدید می توانند در طول زمان به عنوان معیار اصولی تولید شوند بتوان به داده هایی درمورد توان / میزان انتخاب محصول خالص شده است یافت واین در نهایت منجر به اولین ثبت اختراع می گردد. باپیشرفت کار نه تنها افزایش مقیاس بلکه افزایش بازده و پیشرفت های اقتصاد بی نهایت مهم می گردند. هر فرآیند مقیاس توسعه یافته می تواند به مرحلهٔ بعدی افزایش مقیاس واحد نیمه صنعتی را باید و ایمنی تواند موثر باشد یعنی تحت تأثیر زیاد تغییرات کوچک در ترکیب ذخیره غذایی واقع نمی شود و به کنترل دقیق پارامترهای فرآیند بستگی ندارد . به عنوان یک رهنمود یک شخص باید در هر مرحله هدفی معادل دسترسی به بازدهٔ ٪۹۰ داشته باشد . هر مرحله باید باتوجه به حذف ناخالصی ها تا حد ممکن مؤثر باشد زیرا آشکار است که تعداد کراحل هنوز نباید بیش از ٦ تا باشد تا بتوان با یک بازدهٔ کلی ٪ ۵۰ دست یافت . کار بهینه سازی موفق در این رابطه به سنجش معتبر کمی برای ترکیب مورد نظر بستگی دارد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۲- سیستم های سنجش :

بسیاری از محصولات طبیعی در نتیجهٔ غربال بیولوژیکی کشف می شوند . در حالی که نیازی نیست روش های کشف کمی باشند . با این وجود در مقام جنبه های افزایش مقیاس به یک سنجش معتبر کمی برای ترکیب مورد نظر نیاز است . سنجش غربالی بر اساس واکنش بیوشیمیایی خواهد بود و برای یک نوع خاص از نمونه طرح ریزی می شود (مانند یک آبگوشت تحضیری) . بیشتر متابولیت های ثانویه به عنوان مخلوطهای ترکیبات مرتبط تولید می شوند و چنین سنجشی فقط یک ارزش کلی فعالیت در سیستم آزمایشی ارائه می کند . واکنش سنجش می تواند به علتترکیباتی با درجات متفاوت فعالیت و یا جنبش متفاوت در سیستم آزمایشی باشد . این امکان نیز وجود دارد که کم و زیادی اثر و یا ناسازگاری بین مؤلفه های مخلوط وجود داشته باشد . هنگام توسعهٔ یک روش برای افزایش مقیاس لازم است که افزایش غلظتمحصول در تحضیر و افزایش خلوص بعد از هر مرحله خالص سازی ارزیابی شود . به این دلایل مطلوب است که از یک روش کروماتوگرافیک با کشف فیزیکی استفاده شود . Hplcبا کشف uvزمانی ایده آل است که مؤلفه ها یک کلروموفور مناسب داشته باشند.در صورت عدم وجود یک کلروموفور کشف ضریب شکست نور مفید است ولی معمولا حساسیتکمتری دارد .اکنون که کشف یابهای مبنای اسپکتروسکوبی جرمی به آسانی در دسترس هستند اینها

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

مؤثرتر و بهتر می باشند . شویندهٔ Hplcمی تواند برای جریان کل یونی ، یون والد انتخابی یا یون قطعه انتخابی کنترل شود . در بعضی موارد همین یون قطعه ای از اعضای متفاوت یک مجموعه آنالوگها بدست می آید و می تواند برای مجموعه ها عامل تشخیصی باشد .

صرفنظر از سیستم سنجش لازم است ارزیابی مناسبی از افزایش دربازدهٔ محصول ناشی از آزمایشات بهینه سازی داشته باشیم .

۳-توسعهٔ تحضیر

۱-۳ : مقیاس عملیاتی :

رشد اولیهٔ ارگانیسم تولید کننده بر آگار خواهد بود و به کشت مایع منتقل خواهد شد و سپس افزایش مقیاس بالغ بر ۷۰L ۱۰L آبگوشت کشت برای جداسازی مقادیر بیشتر ترکیب مورد نیاز خواهد بود .

۱-۱-۳: انتقال به محیط مایع :

معمولا ۳ توپی آگار (قطر ۱۰mm) به ۵۰ یا ۱۰۰ml محیط در یک فلاسک تکان ml ۵۰۰ منتقل می شود و به دنبال آن انکوباسیون تحت شرایط دمایی و تکان دادن انجام می شود (۲٤۰rpm تکاننده اربیتالی ، ۵۰ mm پرتاب در ۲۸ ˚c برای استرپتومیست ها می باشد) . برای یک برنامه تعمیم یافتهٔ کاری یک ذخیرهٔ همگن از هاگها و یا کشت

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

رویشی با رشد تعلیق مجدد از یک صفحهٔ آگار در یک Cryopreservative(مانند ٪۲۰ گلیسرول ، ٪ ۱۰ لاکتوز) و ذخیره به عنوان Imlaliquots در نیتروژن مایع و یـا در c˚ ۸۰ تهیه می شود .

۲-۱-۳- : افزایش مقیاس :

کشت های اولیهٔ مایع در مثلا فلاسک های تکانی ml ۵۰۰ می توانند یک حجم کـافی از ابگوشت تحضیری برای تولید رشد و ساختارهای تولید و برای آزمایشـات جـدا سـازی اولیـه مربـوط بـه تأییـد ، ثبـات ، حلالیـت محلـول و میـل ترکیبـی بـه رزیـن هـای کروماتوگرافیک ارائه کنند .

افزایش مقیاس تا L vol- ۱۰ به استفاده از تحضیر کننده های مقیاس کوچک نیـاز دارد و نه فلاسکهای تکانی . تولید ۱۰L آبگوشت در این فلاسک ها ظرفیت تکاننـدهٔ مقیـاس بزرگ را می طلبد (۲۰ L*۳٤ فلسـک هـر یـک دارای ۳۰۰ml محـیط) کـه شـاید در آزمایشگاهها در دسترس نباشد . برعکس ، تحضیر کنندهٔ قابل اوتوکلاو benchtop با L ۱۰ حجم کاری از سوی تعدادی از تولید کنندگان در دسترس است . به علاوه آنها دارای این مزیت هستند که کنترل پیوستهٔ فرآینـد را عملـی مـی سـازند و فصـتی بـرای انجـام آزمایشات مواد غذایی و بهینه سازی پارامترهای عملیاتی بدست می دهند . مشکل انتقال یک تحضیر از فلاسکهای فوق به تحضیر کننده ها نبایدنادیده گرفته شود. اگر چـه L ۱۰

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

آبگوشت می تواند از یک مجرای واحد بدست آید انجام یک برنامهٔ پیشرفت تحضیر حداقل به ٤ و در صورت ارجح به ٨ مجرا نیاز دارد .

هیچ قانون درستی برای انتقال موفقیت آمیز کشت های فلاسک تکانی به تحضیر کننده وجود ندارد . برای بسیار از گروههای ارگانیسم هایی که ترکیبات مشخص تولید می کنند یک جستجو و تحقیق از سوابق مکتوب داده های مفیدی در مورد هوادهی ، همزدن ، دما ، فشار و کف سازی بدست می دهد . وقتی هیچ داده ای در دسترسی نباشد اکسیداسیون سولفید برای برآورد سرعت های انتقال اکسیژن در فلاسک ها استفاده می شود .و شرایط انکوباسون در تحضیر کننده می توانند تنظیم شوند تا سرعت های مشابه و فزاینده در مجراها حاصل شود . این عملکرد با سنجش جنبش های اکسیداسیون سولفید به سولفات در یک تحضیر کننده هوا دهی / هم زن در یک تحضیر کننده بر سرعت های انتقال جرم قابل برآورد است . با این وجود باید بدانید که سرعت های مطلق انتقال جرم که در یک سیستم سنتزی تعیین می شوند متفاوت با سرعت هایی هستند که در یک تحضیر واقعی سنجش شده اند و این خود به دلیل اثر عواملی مانند PH ، استحکام یونی و وجود ناخالصی های کاتالیکی است . با این وجود در بسیاری از موارد فلاسک های تکانی نمی توانند شرایط مطلوبی تولید کنند و وقتی شرایط اولیهٔ تحضیر حاصل شوند افزایش بازده باید با آزمایشات بیشتر حاصل شود.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تعدادی پارامتر متفاوت می تواند برای رسیدن به مقیاس بندی موفق بین تحضیر کننده هایی با اندازهٔ متفاوت استاده شود . به طور کل یک عامل به تنهایی مانند سرعت اوج هم زن زمانی ثابت حفظ می شود که تحضیردر مجراهایی با اندازهٔ متفاوت صورت گیرد . این پارامتر خاص مورد استفاده به ماهیت آبگوشت تحضیر بستگی دارد . بنابراین سرعت اوج همزن می تواند سرعت نیروی برشی را تعیین کند و این خود بر اندازهٔ توده های میکروبی و آسیب وارد به سلولهای قابل زیست اثر می گذارد . عدد Reynolds و ورودی توان در هر حجم واحد بر ضرایب انتقال جرم در رآکتور اثر می گذارد و ورودی توان در طی هوادهی می تواند تعیین کنندهٔ اندازه موتوری مورد نیاز برای تحضیر کننده باشد (به خصوص باری تحضیرهایی با ویسکازیته بالا) . در تحضیر کننده های مخلوط یک زمان مشخصمخلوط وجود دارد که تعیین کنندهٔ طول زمان حرکت سیال از impeller می باشد . در مجراهای بزرگ ، این پارامتر باید برای تضمین درجهٔ بالای همگنی در ابگوشت تحضیر در نظر گرفته شود .

علاوه بر پارامترهای فیزیکی که در بالا توصیف شدند تعدادی عوامل دیگر در رابطه با کشت و محیط باید برای انتقال آبگوشت یک فرآیند از فلاسکها به تحضیر کننده و همچنین برای افزایش مقیاس تا مجراهای بزرگتر در نظر گرفته شوند . این عوامل عبارتند از تهیهٔ ذخیرهٔ کشت که رشد تکرار پذیر رابعد از تولید مثل دوباره ممکن می

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

سازد ، روش مایهکوبی که می تواند به تعدادی فلاسک و مراحل تشکیل تخم تحضیر کننده نیاز داشته باشد ، یک ارزیابی از قابلیت تغییر در فرآیند ، هزینه و میزان دسترسی به مؤلفه های محیط و روش استریلیزه در تحضیر کننده . تحضیر کننده های ریز با حجم کاری L ۲ یک مرحلهٔ میانی در فرآیند افزایش مقیاس تولید می کنند . در این مقیاس شکل هندسی تحضیر کننده متفاوت با همتاهای بزرگتر آنها است و تعدئاد منافذ و دیگر ورودیهای مجرایی وجود داشته باشد . این امر مقیاس بندی موفق را بین اینها و دیگر مجراها مشکلتر می سازد .

در هر مرحله از افزایش مقیاس کشت ،معیار اصلی برای موفقیت تولید محصول مطلوب است و باید این معیار را به درستی دنبال کرد . اهمیت روش های سنجش معتبر مورد تأکید قرار گرفته است .اگر چه اتلاف فعالیت می تواند د رآزمایشات اولیهٔ افزایش مقیاس روی دهد با بهینه سازی عوامل فوق الذکر می توان این مشکل را حل کرد .

۲-۳: پیشرفت در تحضیر جهت افزایش تیتر :

تعدادی استراتژی می تواند برای افزایش تیتر و بازده در یک تحضیر استفاده شود. در کوتاه مدت این استراتژیها عبارتند از توسعهٔ محیط ، بهینه سازی شرایط تحضیر ، و توسعه مایه کوبی . این استراتژیها در زیر توصیف می شوند . در دراز مدت روش های کلی (مانند همگروه سازی برای بروز بیش از حد ، جهش ارگانیسم تولید کننده ،

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جداسازی مجدد نژاد تولید کننده) ، تغییرات بیوشیمیایی مسیر بیونستزی ، تئوری کنترل متابولیک و بهینه سازی ذخیره کشت و مراحل تولید مثل همگی بـه طـور موفقیـت آمیـز استفاده شده اند ولی در خارج از حوصلهٔ این کتاب هستند . مثالهـای زیـادی در سـوابق مکتوب وجود دارد که تولید بیشتر متابولیـت هـای خـاص را . معمـولا در نتیجـهٔ روش واحد در توسعهٔ تیتر مثلا توسعهٔ محیط ،توصیف می کنند . یکی از بررسیهای جـامع تـر در مورد توسعهٔ تحضیر و پیشرفت فرآیند برای تولید یک avermectin می باشـد . ایـن بررسی یک آگاهی در مورد پیشرفت های نسبی حاصل از روش های خاص توسعهٔ تیتـر وبر هم کنش های بین آنها ارائه می کند .

۱-۲-۳- توسعهٔ محیط :

یک محیط نمونه برای افزایش محصول طبیعی بایـد ذخـایر کـافی غـذایی رابـرای رشـد سلول و بیوسنتز محصول فراهم کند . مواد غـذایی عبارتنـد از منـابع کـربن ، نیتـروژن ، فسفر ، سولفور ، پتاسیم و آثار عناصری مانند آهن و کبالت . در بسیاری از موارد استفاده از منابع پیچیده و نامشخص نیتروژن مانند آرد سویا مـی توانـد سـطوح کـافی فسـفات ، سولفات و دیگر یون ها راتأمین کند . در حقیقت تعدادی از محیط های ساده می تواننـد فقط یک منبع کربن و منبع نیتروژن با مخلوطی از عناصر اثـر باشـند . در بعضـی مـوارد

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

مقادیر مهمی از کربنات کلسیم و یا یون های فسفات می تواند برای بافرکران PH اضافه شوند و نه برای بر آوردن نیازهای خاص عنصری .

توسعهٔ محیط در ساده ترین شکل خود یک محیط آغازین است و شاید این سئوالات در آن مطرح باشد :

۱- اثرات غلظت های متفاوت هر مؤلفهٔ محیطی چیست ؟

۲- مادهٔ غذایی محدود کننده چیست ؟

۳- اثر جانشین کردن هر مؤلفه با یک منبع غذایی متناوب چیست ؟

٤- آیا ترکیبات متناوب از منابع غذایی عمده یافت می شوند که بتوانند تولید تیترهای بیشتر را موجب شوند؟

در بسیاری از موارد تشکیل متابولیت های ثانویه با محدودیت غذایی و نمونه هایی از تنظیم با کربن ، نیتروژن وفسفات به راحتی آشکار هستند . تولید محصولات طبیعی خاص نیز می تواند تحت تأثیر سطوح پایین عناصر اثر باشد مانند کبالت ، و یا دیگر مؤلفه های کوچک محیط مانند سولفات با این وجود در صورت عدم وجود معلومات کافی نسبت به توسعهٔ محیط ، آزمایشات اولیه برای تغییر نوع و سطح منابع کربن و نیتروژن باعث افزایش تیتر می شوند . مقدار فراوان منابع کربن و نیتروژن در فرآیندهای تحضیر استفاده شده اند و آزمایش اثرات تمام اینها بر تولید یک متابولیت خاص عملی

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

نخواهد بود . یک روش مفید عبارتست از طبقه بندی منابع موجود کربن و نیتروژن به تعداد کمی از طبقات مجزای شیمیایی و سپس آزمایش نمایندگان هر طبقه .

انواع ممکن منابع کربن : ٦ شکر کربن ، ٤ و ٥ شکر کربن ، مونو – دی – پلی ساکارید ، روغن و چربی ، اسیدهای آلی و غیره .

انواع ممکن منابع نیتروژن : محصولات مخمر ، پپتون ، عصاره های گوشتی ، مواد غذایی و آرد ، مواد غیر آلی و غیره .

اگر معلومات اولیه در مورد انواع میکرو ارگانیسم و یا نوع محصول وجود داشته باشد یک تحقیق از سوابق مکتوب می تواند اطلاعات مفیدی در مورد اثر منابع مختلف غذایی ارائه کند . اگر ساختار محصول مشخص باشد یک ملاحظهٔ تئوریکی از مسیرهای بیوسنتزی می تواند فواید استفاده از منابع ویژه را نشان دهد . (به عنوان مثال یک منبع نیتروژن با سطوح بالای آمینو اسیدهای خاص) . با این وجود یک غربال تصادفی و اولیهٔمحیط می تواند مستلزم آزمایش دو و یا سه کاندید از هر طبقهٔ منبع کربن و نیتروژن باشد . این کاندیدها بر اساس میزان دسترسی ، هزینه و اثرات ممکن بر فرآیند پایین رود انتخاب می شوند .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۲-۲-۳:طرح آزمایشگاه :

تعدا زیادی توسعه محیطی د رفلاسک ها با استراتژی دقیق آزمایشگاه بسته به مقدار وکیفیت معلومات اولیه به وجود خواهد آمد.

یک روش ساده در این نوع توسعه عبارت است از غربال تصادفی تعدادی از محیط های متناسب.این یک روش معتبر در صورت نداشتن اطلاعات اولیه خواهد بودبرای تولیدات کاملاً جدید گروههای ارگانیسم هایی شناخته شده نسیتند مفید باشد. با این وجود در بیشترموارد حداقل تعدادی داده در مورد نیازهای رشد ویا تولیدوجود نخواهد داشت از سوابق مکتوب و یا تجربیات قبلی و روش منطقی تر پیشرفت سریع تر را د رجهت افزایش تیتر ممکن می سازد.

روش های مختلف طراحی آزمایشگاهی وجود داردکه برای بهینه سازی محیط می توانند استفاده شوند. ٤ روش ساده ای که به طور موفق در برنامه های پیشرفت تیتر استفاده شده اند. در زیر توصیف می شوند. این روش ها باید اساسی برای مطالعات اولیه توسعه محیط باشند که در آزمایشگاه روی می دهند. دیگر روش ها به معلومات عمیق تر آماری من جمله بهینه سازی،تحلیل چند متغیری وتحلیل مؤلفه های اصولی نیازدارندکه در زیر بررسی می شوند:

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۱- یک عامل در یک زمان :

این نوع سنتی آزمایش هر چیزی را ثابت نگه می دارد و فقط یک مؤلفه رادر یک زمان تغییر می دهد.این روش در صورتی معتبر است ک عامل انتخابی یک اثر گذار بحرانی تیتر باشد ولی دارای این نقص است که عوامل بحرانی را شناسایی نمی کند هیچ داده ای در مورد بر هم کنش این عوامل ارائه نمی نماید.

۲- آزمایشگاه مل فاکتوری :

این آزمایشات داده های جامعی در مورد اثرات و بر هم کنش های عوامل انتخابی ارائه می کنند ولی نقص آنها این است که زمان، هزینه ومنابع زیادی را می طلبد .به عنوان مثال برای بررسی ٤ عامل هر یک در ٤ سطح ۲۵٦ درمان آزمایشگاهی مورد نیاز است .اگر چه این عوامل اثرات مهمی برتیتر محصول نداشته باشند این خطر وجود داردکه بیشتر آن اطلاعات مربوط به عواملی خواهند بود که بر اثر کمی برتیتر نهایی دارند . بنابراین چنین آزمایشاتی درمراحل بعدی توسعهٔ محیط بعد از شناسایی چندین عامل بحرانی انجام خواهد شد .

۳- آزمایشات فاکتوری کسری :

این روش براساس کار پالت وبا رمان به طور موفقیت آمیزی برای تعیین این که کدام مولفه های محیط بیشترین اثررا بر تولید متابولیست دارند به کار رفته است. در چنین

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

آزمایشاتی تعدادی داده در مورد بر هم کنش های بین عوامل از بین می روند و بنابراین عوامل بیشتری باید در همان تعداددرمان آزمایشگاهی بررسی شوند. هر مولفهٔ محیط به عنوان یک عامل در نظر گرفته می شود و در دوسطح متفاوت آزمایش می گردد. بنابراین اگر محیط کنترل دارای ۲ ٪ گلوکز باشد این گلوکز در ۱ و٤ ٪ آزمایش می شود. با استفاده از طرحهای استاندارد یک محیطی که دارای ۷ مولفهٔ جداگانه است (یعنی۷ عامل) می تواند در ۸ درمان آزمایشگاهی تحلیل شود. این نوع آزمایش برای بهینه سازی یک محیط طراحی نشده است بلکه برای شناسایی عوامل بحرانی و جهت اثرآن بر سیستم طراحی شده است .بنابراین یک آزمایش اولیه فاکتوری کسری در مورد مولفه های محیط می تواند در مراحل اولیه توسعهٔ محیط انجام شود تا یک اساس منطقی برای آزمایشات بیشتر به دست می آید.

٤- آزمایش آرایه:

این آزمایشات بررسی جفتهای عوامل هر یک در ۳ سطح متفاوت می باشد (سطح کنترل ۲ * کنترل و ۵/ . * کنترل) . جفت های نمونهٔ عوامل عبارتند از :

الف) سطح منبع کربن در مقابل سطح منبع تیتر و ژل.

ب) نوعی منبع تیتر و ژل در مقابل سطح منبع کربن.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

بنابراین برای یک محیط کنترل که دارای مثلاً ۲ ٪ گلوکز و۱ ٪ آردسویا است . مثال الف بالا می تواند ۱ و ۲ و ٤٪ گلوکز رادر هر ۰/ ۵ ،. ۱ و ۲ ٪ آردسویا آزمایش کند،یعنی یکرقم کل ۹ درمان . تعیینتیتر در هر محیط آزمایش ترسیم سطوح را ممکن می سازد واز اینجا اثرات سطوح بالا وپایین هر عامل وبر هم کنش های آنها به راحتی شناسایی می شود. این آزمایشات همانند آزمایشات فاکتوری کسری فوق برای بهینه سازی مطلق طراحی نشده اند بلکه برای شناسایی سریع روندهایی می باشند که به افزایش تیتر می انجامند.

۳-۲-۳ : بهینه سازی شرایط تخمیر کننده :

اگر چه داده هایی در مورد شرایط تخمیر می تواند از فلاسکهای تکانی به دست آیند این آزمایشات باید به طور مطلوب در تخمیر کننده ها انجام شوند یعنی در جایی که کنترل دقیق تر فرآیند عملی باشد .با این وجود یک آزمایش اولیه فلاسک می تواند یک نوع بررسی از دما، هوادهی (حجم محیط) ،هم زدن ،سطوح مایه کوبی باشد .این آزمایش بهعنوانیکطرح فاکتوری کسری .یا مجموعه ای از آزمایشات آرایه انجام می شود مانندآزمایش هوادهی (حجم محیط) در مقابل دما.

اگر تعدادی تخمیر کننده کوچک در دسترس باشند یک آزمایش مقدماتی در ٤ مجرا می تواند یک تقاطع جریان هوای هم زدن با استفاده از جریان هوای بالای هم زدن بالا ،

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جریان هوای بالای همزدن پایین ، جریان هوای پایین / هم زدن بالا و جریان هوای پایین / هم زدن پایین باشد.

چنین آزمایشی به طور نرمال بایک محیط توسعه یافته و در یک دمای برای حمایت از تیترهای کافی محصول انجام می شود.

آزمایشات بیشتری که بتوانندبه طور سودمند در تخمیر کننده ها انجام می شوند عبارتنداز کنترل ، سطوح خاص ،رژیم های تغذیه ای و کنترل سطوح اکسیژن . بسته به سطح ابزار ،تعدادی استراتژی برای کنترل اکسیژن محلول (dot) می تواندبررسی شوند مانند افزایش سرعت جریان هوا ویاسرعت هم زدن جهت حفظ سطوح dot در ملی رشد سلول و یا تغییر یک پارامتر خاص بعد از فاز اولیه رشد.

افزایش حجم تخمیر تا مقیاس واحد صنعتی و ماورای آن به بهینه سازی تفصیلی شرایط تخمیر نیاز دارد تا پارامترهایی مانند رژیم استرلیزه ،وسیکازیتهٔ محیط ،نیروی برش impeller و کف سازی نیز در نظر گرفته شوند.

هر نوع تغییری در شرایط تخمیر کننده باعث تغییر ساختار تخمیر می گردد وتغییر در سرعت رشد سطوح نهایی زیست توان بر تشریح کل آبگوشت اثر می گذارد مورفولوژی تعدادی از ارگانیسم ها به خصوص قارچ ها می تواند در تخمیر کنندههادر مقایسه بافلاسکها ، کاملاً متفاوت باشد واین به علت سطوح مایه کوبی ، سطوح اکسیژن محلول

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

، رژیم های هم زدن ونیروی برش می باشد .تغییر در این مورفولوژی نـه تنهـا بـر بـازدهٔ کشت اثر می کذاردبلکه بر تشریحات بعدی نیز اثـر گـذار اسـت . بنـابراین در صـورت امکان آزمایشات اولیهٔ استخراج باید برای آبگوشت کشت که از عملکرد تخمیر کننده ها به دست آمده است انجام گیرند.

٤-٢-٣ :توسعهٔ مرحلهٔ تخم :

تولید love 10 آبگوشت کشت مستلزم استفاده از حداقل یک مرحلـهٔتخم جهـت ارائـه سطوح کافی مـایهکوبی مـی باشـد . دربعضـی مـواردابن یـک اثـر مهمـی بـر تیترهـای مرحلهٔنهایی دارد. این اثر با مدت مرحلهٔتخم ،دمـای آنکوباسـیون ، سـطح مایـه کـوبی و منبع اصلی مایه کوبی اعمال می شود و تمام اینها در کیفیت تخمیر مرحلـهٔنهایی نقـش دارند.

در بیشتر موارد هر گونه اثر بر پردازش پایین رود تغییرات در رژیم مرحله تخم به علت اختلاف در زیست توده ای است که بر تشریح اثر مـی گـذارد . بـا ایـن وجـود اسـتفاده ازمحیط تغییر یافته تخم می تواند باعث ساختار متفـاوت ناخالصـی در ملـی جداسـازی گردد. در این جا است که تغییر مراحل کروماتوگرافی جهت رسیدن بـه درجـهٔ خلـوص مطلوب محصول نهایی الزامی خواهدبود.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

٤ـ اثر پردازش پایین رود :

از استراتژیهای کوتاه مدت برای توسعهٔ تیتر ،بیشترین افزایش ها ابتدا از توسعه محیط حاصل می شوند .با این وجود این بالاترین اثر را بر پردازش پایین رود دارد.حتی تغییرات کوچک در محیط میتوانند عواقب مهمی در فرآیند بعدی جداسازی داشته باشند اینها می توانند عبارت باشند از سطح تغییر یافته زیست توده که مرحله تغییر یافته تصفیه را الزامی می سازد به طور متناوب ترکیبی از مولفه های محیط خاص و شرایط تخمیر می تواند موجب تولید ناخالصی های بیوشیمیایی غیر قابل ردیابی می گردد که برای دفع بهیک گروه کروماتوگرافی بایک کاهش در بازده کلی فرآیند نیاز دارند تعدادی مثال ویژه در جدول ۱ ارائه شد.

تمام اثرات شرایط تخمیر و محیط تغییر یافته برای پردازش پایین رود مخرب نخواهند بود به عنوان مثال تغییراتی در مورفولوژی کشت می تواند باعث تصفیهٔ ساده تر گردد.

در بسیاری موارد اثر کلی تغییر تخمیر آشکار نخواهد شد تا اینکه فواصلی تافرآیند جداسازی به وجود آید یعنی زمانی که داده ها در مورد درجهٔخلوص جریان محصول در دسترس باشند یک فرآیند توسعه یافته برای یک محیط خاص می تواندشامل مراحل کروماتوگرافی برای دفع ناخالصی های آن محیط باشد تغییر در یک مولفهٔ محیط می تواند باعث تغییر در ساختار ناخالصی گردد واین خود مراحل بیشتر کروماتوگرافی را در

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جهت دسترسی به یک تولیدی بادرجهٔ خلوص مطلوب الزامی می سازد برعکس ، تعدادی از محیط های ناخالصی های کمتری دارند ونیاز به مجموعه ای از روندهای مختلف کروماتوگرافی را رفع می کنند.

ناخالصی ها در یک فرآیند نیز استخراج در نتیجهٔ تخمیر در ۲ طبقه قرار می گیرند: فیزیکی و بیو شیمیایی .

ناخالصی های فیزیک عبارتند از : ناخالصی های سلولها ، ضایعات سلولی و مولفهها غیر محلول محیط که بیشتر آنها با مراحل اولیه تصفیه از بین می روند.این فرآیند با شرایط اولیهٔآبگوشتی آسان می گردد . به عنوان مثال افزایش عوامل لخته سازی ، تنظیم PH و یا حرارت درمانی ، چنین عملیاتی باعث توسعهٔ رهایی تولیدات داخلی سلولی به فاز مایع می گردند و بدین وسیله نیاز به استخراج کامل سلولی از بین می رود. تجزیه سلولی نیز باعث افزایش بار ناخالص بیو شیمیایی می گردد.

ناخالصی های بیوشیمیایی از مولفه های محیطی ، ضد کف ها ،روغن ها ، ویونهای فلزی ناشی می شوند ومی توانند دارای متابولیست هایی باشند که با ترکیبات موردنظر ارتباط نزدیک دارند آنها همگی می توانند به روندهای تجربی جداسازی اثر بگذارند . بنابراین لازم است که ارتباط نزدیکی بین دانشمندان استخراج و تخمیر در طی تمام جنبه های افزایشی مقیاس وجود داشته باشد تا تضمین شود که توسعه های تخمیری اثر

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

معکوس بر روندهای جداسازی ندارند. تغییر اجتناب ناپذیر ماهیت ذخیرهٔ غذایی نیاز به سنجش خاص کمی را برای تولید و سنجش درجهٔ خلوص تولید را در فرآیند جداسازی الزامی می سازد.

۵- توسعهٔ فرآیند پایین رود

۵-۱ – داده های اولیه :

چون یکی از اهداف افزایش مقیاس افزایش بازده ،یعنی نسبت به تولید جدا شده می باشد . علم به ثبات ترکیب یک عامل مفیدی است . روندهایی که از شرایطی کم ثبات ترکیب استفاده می کنند می توانند به کنار گذاشته شوند تا از میزان اتلاف کاسته شوند . اگر داده ها تعیین شده اند.می توان ثبات پذیری را تحت یکسری از شرایط دمایی و PH بستگی دارد . یعنی از ترکیباتی که در حالت خالص نسبتاً ناپایدار هستند می توانند با جفت شدن با دیگر ترکیبات پایدار گردند متابولیست های ثانویه میکروبی معمولاص در سلولهای قابل زیست و رو به رشد سنتز می شوند. و می توانند به طور کامل ویا نسبی به محیط پیرامون ترشح کنند . تعیین ویژگیهای نسبی به این معناست که محصول با جزء سلولی در تصفیه ویا سانتریفوژ جمع آوری می شود. محل دقیق در سلول و یا بر سلول مهم نیست.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جداسازی در صورتی ساده تر و بازده نیز در صورتی بیشتر است که محصول کاملاً در سلول و یاسیال کشت قرار داشته باشد . شاید بتوان تخمیر را تغییر داد تا بتوان محصول را کاملاً در سلول به یک فاز منتقل کرد . این را می توان با تنظیم مادهٔ , PH و یا با ابزار دیگری انجام داد مانند حرارت درمانی بعد از برداشت. به عنوان مثال یک مولفه اسیدی می تواندر PH=400 درون سلولی باشد واین به علت حلالیت پایین آب و یا جذب سطحی در لیبیدهای سلولی است ولی در PH بالاتر شکل آینونی خارج سلولی خواهد بود.

۲-۵ – محصولات درون سلولی :

محصولات پروتئینی درون سلولی اغلب با متلاشی شدن سلول آزاد می شوند بنابراین مخلوط حاصل شامل تمام مواد سلولی است وهیچ خالص سازی مورد نیاز نیست ، برعکس ، متابولیت های میکروبی ثانویه می توانند به طور انتخابی با حلال های آلی مخلوط در آب از سلولها شسته شوند.گاهی اوقات استخراج انتخابی تر (اگر چه کند تر) می تواند با حلال های کم قطبی غیر مخلوطی در اب حاصل شوند . برای استخداج انتخابی نیز با استفاده از سیستم های حلال بر اساس دی اکسید کربن فوق بحرانی نیز حوزه ای وجود دارد . ارزش آنرا دارد که اندکی وقت برای این مرحله جهت کاهش بار ناخالصی در مراحل بعدی صرف کنیم ولی نمی توان به طور قطع یک مرحلهٔ واحد را در

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

آن واحد بهیه کرد تمام تحضیر و فرآیند توسعهٔ استخراج یک سیستم دینـامیکی اسـت و بهینه سازی یک فرآیند تکراری می باشد . هدف در این مرحله دسترسی به یـک عصـاره ای است که دارای محصول مطلوب و محصولات مربوطه است ولـی بـدون مـواد آلـوده کننده در مواد منبع . خالص سازی بیشتر می تواند به وسیلهٔ تعـدادی از روش هـا بـرای محصولات خارج سلولی که در بخش ۳-۵ توصیف شوند انجام شود .

یک مادهٔ آلوده کنندهٔ پر دردسر ضد کف تحضیر است . اثرات آن می توانند گاهی اوقات با استخراج اولیه توسط یک حلال غیر قطبی مانند هگزان کاهش یابند حتی اگر بـه طـور کامل دفع نشوند .

افزایش مقیاس این روند ها به آسانی با استفاده از وسیلهٔ سنتی آزمایشگاهی صورت مـی گیرد . تعدادی سانتریفوژ ازمایشگاهی برای استفاده تا مقیاس ٦L در دسـترس هسـتند و ماشین Jouan ۵/۲۲ دارای ظرفیت L - ۹/٦ است .

۳-۵ : تولیدات خارج سلولی :

اکثریت متابولیت های ثانویهٔ خارج سلولی مواد آب دوست و یـا قابـل یونیزاسـیون مـی باشند . مواد قابل یونیزاسیون اغلب به داخل حال های مخلوط ناپـذیر در آب در حالـت یونیزهٔ خود استخراج می شوند . بنابراین مواد اسـیدی مـی تواننـد از یـک محلـول آبـی اسیدی استخراج شوند .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تعدادی روش استخراج حلال وجود دارد که با استفاده از ابزار سنتی ازمایشگاهی نمی توانند انجام شوند . به عنوان مثال استخراج سنتی پنی سیلین G که در آن آبگوشت اسیدی در تماس با حلال مخلوط ناپذیر در آب می باشد می تواند فقط با استفاده از روش های جریان پیوسته صورت گیرد و این به علت ثبات ضعیف محصول در مقادیر پایین PH است . این استخراج می تواند بر مقیاس bench با استفاده از ابزار ALUFVE نیز صورت گیرد . این ابزار برای مطالعات استخراج در صنعت هسته ای طراحی شده اند . استخراج انتخابی می تواند مستلزم استفاده از حلال هایی باشد که در آنها محصول ضریب تقسیم پایینی دارد . استخراج کن های جریان مخالف مقیاسی پردازشی هستند ولی کوچکترین استخراج کن ٤ مرحله ای که توسط Robatelتولید شد می تواند یک مقیاسی benchدر نظر گرفته شود . این وسیله دارای بازدهٔ عملیاتی ۱۰۰ml/min –۵۰ است .

اگر استخراج حلال به عنوان یک مرحلهٔ اولیهٔ خالص سازی غیز قابل انجام است روش های جذب سزحی می توانند استفاده شوند . استفادهٔ متوالی از تبادلگر یونی و رزین های غیر یونی پلیمری بر خالص سازی اثر می گذارد . اگر رزین ها به طور منظم استفاده شوند به گونه ای که بیش از ۵۰L از آنها در طی یک پروژه استفاده شود مقرون به صرفه تر آن است که آنها مستقیما از سازندگانی بدست آوریم و نه از عرضه کنندگان

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

آزمایشگاهی . رهنمودها در مورد استفاده از بتادل گرهای یونی به راحتی در دسترس هستند . یک مقدمهٔ مفید از سوی هارلند ارائه شده است .

رزین پلیمری غیر یونی مانند Amberirle – ۱۱۸۰ و یا Diuion HP ۲۰ می تواند به عنوان جاذب سطحی اولیه استفاده شود . آنها ابتدا به بر هم کنش های آب گریزی و پیوندی Pi عمل می کنند . آنها می توانند بر محلولهای حلال در آب که کی حوزهٔآب گریز کوچک در مولکول دارند مؤثر باشند . جذب سطحی باافزایش استحکام یونی محلول افزایش می یابد .

اگر آبگوشتی که برای چنین رزین هایی به کار می رود قبل از تصفیه به لخته شدن نیاز داشته باشد لخته ساز غیر الی باید استفاده شود مانند کلرید کلسیم . یونهای اضافی غیر آلی جذب سطحی را افزایش می دهند در حالیکه لخته سازهای الی می توانند رزین را چروکیده کنند . شستشوی محصول حاصل از چنین رزین هایی با استفاده از متانل آبی ، پروپانون و یا پروپان . ۲- OL به آسانی صورت می گیرد .

متانول باید با احتیاط استفاده شود زیرا ممکن است محصولات واکنشی خاص را استری و یا متانولی کند . رزین هایی از این نوع به آسانی با هزینهٔ پایین به شکل توده در دسترس هستند و برای کاربردهای صنعتی توسعه یافته اند مانند جداسازی سفالوسپرین C . اگر ظرفیت بالاتر و یا پیوندقوی تری مورد نیاز باشد رزین پلی استیرن بروصینه

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

مانند ۲۰۷ – Sepabeadssp (میتزوبیشی) می تواند استفاده شود . سابقهٔ مکتوب فنی از سوز سازندگان این رزین ها در اختیار شما قرار می گیرد .

٤-٥ : خالص سازی محصول :

خالص سازی مفید بیشتری می تواند با استفاده از کروماتو گرافی مایع با فشار متوسط (Mplc) صورت گیرد . یک تعداد زیادی از خانه های ثابت برای این روش در دسترس هستند که در آ"هااندازه های ذره ای ۱۰۰Mm– ۳۰ استفاده شود . علاوه بر ژل سیلیکا و مشتقات معمول آن ، رزین های آب گریز مانند آن هایی که در بالا ذکر شدند می توانند در یک شکل دانه ای کوچکیافت شوند . در مقایسه با ژل سیلیکا ، رزین های پلیمری دارای این مزیت هستند که می توانند در قلیای تغلیظ شده پایدار باشند و این ویژگی برای اهداف پاکسازی مفید است . آنها دارای این نقص هستند که نسبت به ژل سیلیکا سختی کمتری دارند و حجم خود را با تغییر در قطبیت حلال تغییر می دهند .

مثالهایی از این نوع رزین عبارتند از ۱٦۱ Amberchrom CG (Toso Hass) ، Diaion Hp 20ss (Mitsubishi) که هر دو کوپولیمرهای پلی استرین ـ دی وینیل بنزن هستند و ۷۱ Amberchrom CG که یک رزین اسیدی ـ بازی با اتصال عرضی متا کریلیک می باشد .MPLC نسبت با HPLC با توجه به فازهای ثابت هزینهٔ کمتری دارد زیرا HPLC معمولا مستلزم خرید ستونهای بسته بندی شده است . سیستم های

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ستونی برای MPLC از سوی تعداد زیادی از سازندگان در دسترس هستند مانند Buchi و Chromwald .

در HPLC تدارکاتی از فازهای ثابت ۲۰ Mm و یا کمتر استفاده می شود و زمانی استفاده می گردد که خالص سازی تفکیک بالا مورد نیاز باشد . این در خالص سازی متابولیست ثانویه رایج نیست زیرا آنها اغلب به عنوان مخلوطهای پیچیدهٔ ترکیبات خیلی نزدیک به هم تولید می شوند . در زمان افزایش مقیاس به نظر می رسد که روش های تحلیلی HPLC توسعه خواهند یافت . اینها می توانند رهنمودی در مورد طراحی روند های تدارکاتی باشند ولی اوج علاقه نسبت به ناخالصی ها وجود ندارد . زیرا بارگیری خیلی بیشتری که در HPLC تدارکاتی استفاده شده است باعث پهنی نوار می گردد کتابهای زیادی در مورد HPLC در ۲۰ سال گذشته به چاپ رسیده اند دو تا از آنها کهرهنمدهای عملی ارائه می دهند که در اینجا بررسی می شوند .

سیلیکای فاز معکوس (مانند سیلیکای اوکتادسیل) برای اهداف تحلیلی فراوان استفاده می شود و وفتی به صورت تدارکاتی استفاده شود خیلی مؤثر است . با این وجود ظرفیت آن نسبتا پایین است . این سیلیکا با اکثریت ناهالصی هایی که در آبگوشتهای تحضیری یافت شده اند مقاوم چین خوردگی است ولی آلیفاتیکهای زنجیرهٔ بلند مانند

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

آنچه که در ضد کف های تحضیری یافت میشود می تواند مسائلی ایجاد کند . وقتی این فازهای ثابت چین می خورند آسانتر از رزین های پلیمری پاکسازی می شوند .

اگر شویندهٔ HPLC دارای یک نمک باز باشد یک مرحلهٔ اضافی برای دسترسی به محصول خالص مورد نیاز خواهد بود . نمک زدایی می تواند با عبور محلول نمک / محصول از یک ستونی از یکی از رزین های MPLC انجام شود مانند DialonHp20ss که بسیاری از ترکیباتی که دارای حوزه های آب گریزی در مولکول هستند جذب خواهد کرد اگر چه بی نهایت در آب محلول است . محصول خالص گاهی اوقات می تواند با شستشوی سادهٔ رزین با آب بدست آید . در موارد دیگر شستشو با متانول رقیق و یا پروپانون رقیق ضروری است .

وسایل لازم برای HPLC تدارکاتی نسبتا گران هستند . برای افزایش بازدهٔ آن باید با خود تزریقی مشخص شود تا بتوان پیک های شناخته شدهٔ قبلی راجع آوری کرد . یک چرخهٔ min – ۳۰ می تواند مفید باشد زیرا عملیات شبانه روزی می تواند بیش از ۳۰ بخش محلول تغذیه را پردازش کند . شاید این بهترین راه حل برای افزایش بازده با وسایل مقیاس bench باشد . همچنین این مزیت وجود دارد که جداسازی می تواند در طی عملیات به راحتی صورت گیرد . تعدادی از سازندگان ابزاری را بر اساس ستونهایی با قطر mm ۵۰-۱۵ که با فازهای ثابت Mm ۱۵ – ۵ بسته بندی شده اند توصیه می

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

کنند . زمانهای بازداری در HPLC فاز معکوس می توانند تحت تأثیر دما باشند . توصیه می شودکه یک ستونی برای تزریق تکراری استفاده شود که در یک مجموعه گرم خانه قرار گرفته است که دمای آن کمی بیش از دمای محیط است یعنی C ° ۳۰ .

MPLC و HPLC تدارکاتی می توانند از مقادیر زیادی حلال استفاده کنند توصیه می شود که یک عیار تحلیلی برای مراحل میانی کروماتوگرافی لازم نیست . در استفاده از مخلوطهای حلال هایی که به آسانی با تقطیر جدا می شوند قوانینی وجود دارد بنابراین استفادهٔ مجدد آنها تسهیل می شود . یک بازگردانی اتوماتیک حلال یک راه حلی است که از سوی سازندگان ارائه شده است ولی باید با احتیاط استفاده شود .

شویندهٔ حاصل از جداسازی خط مبنا می تواند دارای ناخالصی هایی باشد که با وسیبه کنترلی کشف نشد اندو می توانند باعث آلودگی شویندهٔ توده ای گردند .

مرحله نهایی جداسازی معمولا بلور سازی و یا خشک فریز کردن است . در کنترل محصولات خشک باید دقت کرد زیرا بسیاری از تولیدات طبیعی بی نهایت سعی هستند . توصیه می شود که هر محصول جامدی با خواص نامشخص با استفاده از دستکش کنترل و بررسی شود .

٦ خلاصهٔ بحث :

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

افزایش مقیاس مستلزم چیزی بیش از افزایش حجم است . افزایش تیتر تحضیر نه تنها محصول بیشتری می دهد بلکه باعث افزایش نسبت محصول به ناخالصی می کردد و این فرآیند جداسازی را تسهیل می کند .روندهای جداسازی می توانند با بهینه سازی دقیق هر مرحله با هدف افزایش تعداد مراحل و بازدۀ کلی مؤثرتر شوند . هنوز تجربه گرایی زیادی در توسعۀ فرآیند برای تحضیر و استخراج وجود دارد . یک فرآیند کلی مؤثر نتیجۀ پیشرفت های فراوان است و به روش های معتبر سنجش کمی بستگی دارد . افزایش مقیاس در یک آزمایشگاه می تواند نیازهای یک ترکیب را برآورد سازد . با این وجود اگر احتمال افزایش بیشتر در مقیاس با استفاده از طرح فرآیند وجود دارد روند های قوی تری که در آنها از مواد ارزان استفاده می شود باید استفاده گردند .

www.kandoocn.com

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۱- دنبال کردن جداسازی محصولات طبیعی :

منظور ما از ((دنبال کردن)) چیست ؟ فرض کنیم که محصول طبیعی که فقط جدا شده است مورد توجه است یعنی دارای فعالیت بیولوژیکی است که ارزش بررسی بیشتری دارد و می تواند یک ساختار جدیدی داشته باشد و یا این که به خاطر دلایل اکولوژیکی و طبقهبندی شیمیایی مورد توه باشد . در هر حال ما می خواهیم ترکیبات بیشتر ، آنالوگ ها و پیش ماده های بیوسنتری و دیگر متابولیت های مربوطهٔ بیشتری داشته باشیم . اگر ترکیب از نظر بیولوژیکی فعال باشد می توانیم به این ترکیبات مربوطه نظری بیفکنیم و داده های مربوط به ارتباط ساختار فعال را بدست آوریم زیرا ترکیباتی که فعالیت بیشتری دارند و پایداری شیمیایی و متابولیکی آنها نیز بیشتر است و از نظر تجاری موقعیت ثبت اختراع ترکیب اصلی با توصیف خانوادهٔ بزرگتر متابولیت ها مستحکم می گردد.

گذشته از روش های کلاسیک سنتزی تعدادی روش وجوددارد که ما به عنوان دانشمندان محصولات طبیعی از آنها استفاده می کنیم و می توانیم بدین طریق این جداسازی اولیه محصول طبیعی را انجام دهیم .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۲- استخراج بیشتر :

شاید آشکارترین و مهمترین روش ، روش انجام یک تحضیر تکراری (یا جمع آوری) باشد ـ شاید در یک مقیاس بزرگ تا بتوان مقادیر بیشتر یک ترکیب و یا متابولیت های مربوطه ای را که در یک ارگانیسم وجود دارند جدا کرد . شاید بررسی دیگر نژادهای ارگانیسم و یا دیگر گونه های مربوطه نیز مفید باشد زیرا این ها می توانند سطوح بیشتر ترکیب و یا آناتودهای آنها را تولید کننده علم به محصول طبیعی اولیه ما را در بررسی بیشتر عصاره با عقاید بهتر نسبت به چگونگی یافتن ساختارهای مربوطه کمک می کند .

۲-۱ : طیف شبیه uv:

مقایسهٔ ساختارهای uv ترکیب با ساختارهای موادی که مطابق دیگر پیک های در یک کروماتوگرام هستند می تواند باعث شناسایی متابولیت های مربوطه گردد . ترکیبات مربوطه می توانند دارای ویژگیهایی باشند که عملکرد شناسایی را بهتر می سازند ـ یک کلیدی که با آن بعضی پیک ها انتخاب می شوند . با وجود کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) ، این نوع تحلیل به طور پیوسته با استفاده از کشف یاب آرایه ای دیودی صورت می گیرد ، یعنی یک ردیابی که جذب را بر طول موج های متفاوت به طور همزمان سنجش می کند به طوریکه یک طیف uv آنها به طور جداگانه در یک اسکپترفوتومتر uv سنجش می شود .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

طیف uv می تواند یک نیمه شناسایی بدست دهد و این مشخصه بـه نوبـهٔ خـود توجـه استخراج کن را به پیک های انتخابی در یک کروماتوگرام پیچیدهٔ دیگر مبذول می دارد .

۲-۲: شناسایی شیمیایی :

این اصل شناسایی ترکیبات از یک خانوادهٔ شیمیایی و ساختاری می تواندبـه روش هـای دیگر نیز انجام شود در حالی که ترکیبات یک مخلوط به طور کامل و یا نسبی جدا شـده باشـند. بـه عنـوان مثـال یـک صـفحه TLC و یـا کروماتوگرامکاغـذی مـی توانـد بـا واکنشگرهایی که با طبقات شیمیایی خاص واکنش ویژه دهند اسپری زده شود . یک مثال از این روش کشف آمین های ثانویهٔ متفاوت در یـک ابگوشـت کشـت Iuteogriseus ، Streptomyces با کمک رنگ آمیزی صفحات TLC عصاره هـای ارگانیسـم کـه دارای فنوتیازین پربرومید هستند می باشد .

این روش غربال شیمیایی می تواندبرای بررسی ارگانیسـم هـای مربوطـه و یـا نژادهـای مختلف یک ارگانیسم نیز استفاده شود و بدین ترتیب می تـوان ارگانیسـم هـایی را کـه۸ ساختارهای شیمیایی متفاوت و یا مربوطه دارند کشف کرد . این خود مـی توانـد کـانون جداسازی بیشتر باشد . این اصل کشف طبقات ویژه ترکیب مربوطه با سهولت نسبی بـه تفصیل به عنوان بخشی از رونـد هـای dereplication در فصـل ۱۰ و ۷ بررسـی شـده است .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۲-۳ : اسپکترومتری جرمی و Lc-Ms :

اسپکترومتری جرمی (Ms)یک وسیله قوی برای شناسایی ترکیباتی است که مرتبط با هم هستند . این اسپکترومتری به همراهیک سیستم Lc می تواند در کشفشباهت ها و روابط مواد مطابق اوج های کروماتوگرافیک با الگوی تحضیری خود و یا با توجه به این حقیقت که آنها دارای ابم های خاصی مانند Clو Br هستند که نسبت های ایزوتوپی مشخص دارند مفید باشد . شاید دو ترکیب یک وزن مولکولی مشابه داشته باشند یا این که وزن های مولکولی جدا شده با اختلافات مورد انتظار در آنها یکی باشد مثلا اختلافهایی که ضرایبی از ۱۶ هستند می توانند یک مولکول را با گروههای مختلف اکسیژن و یا بدون آن نشان دهند .

۲-٤ : جداسازی کامل :

کامل ترین ابزار برای تضمین جدا شدن تمام متابولیت های مربوطه که در یک عصارهٔ ارگانیسم وجود دارند عبارتست از جدا کردن هر چیزی – یا حداقل هر ترکیبی تا حد ممکن ـ از عصاره . با این روش دیگر متابولیت های ثانویهٔغیر مرتبط نیز جدا می شوند . چنین متابولیت هایی ممکن است از نظر ساختاری با متابولیت های اصلی یکی نباشند ولی ممکن است دارای پیش ماده های اولیهٔ بیوسنتری باشند و کلیدی برای مسیرهای بیوسنتزی در عملیات ارائه کنند . به علاوه این متابولیت ها ممکن است در تولید یک

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ساختار متابولیت ثانویهٔ ارگانیسم مفید باشند . این فرآیند با توجه به این حقیقت تسهیل می شود که معمولا بر یک استخراج تکراری مقیاس بزرگ صورت می گیرد و از این جا این امکان وجود دارد که پیک های کوچک یک کروماتوگرام به درستی بررسی شوند . در جداسازی اولیهٔ مقیاس کوچک ،این پیک های کوچک ممکن است به علت توجه به مواد قابل دسترسی آسان نادیده گرفته شده باشند و یا این که ممکن است کشف نشده باشند . این فرآیند با دسترسی به جداسازی مؤثر عصاره بر HPLC تدارکاتی و کنترل شویش با سیستم کشفی با حساسیت بالا انجام می شود به این منظور که بتوان تمام پیک های کوچک را انتخاب کرد و اختلالات موجود بر خط مبنای کروماتوگرام را که مؤلفه های کوچک را نشان می دهند کشف نمود . این فرآیند ـ که گاهی اوقات " بررسی چمن " نام دارد می تواند نتایج جالبی داشته باشد . بیش از یک حالت وجود دارد که در آنها فعالیت بیولوژیکی تنها نتیجهٔ یک مؤلفهٔ بزرگ یک عصاره بوده است که بعدا کشف شده است . در حقیقت بیشتر فعالیت به علت یک ترکیب بالقوه ای است که در سطوح خیلی کم در عصاره وجود دارد و بنابراین می تواند نادیده گرفته شود .

یک تحضیر بعدی می تواند منجر به تولید ترکیبات اضافی و مختلف گردد زیرا به چند دلیل ساختار متابولیکی ثانویهٔ یک تحضیر تکراری می تواند متفاوت باشد . چنین دلایلی عبارتند از اثرات افزایش مقیاس ، تغییرات در نژاد ارگانیسم ، اختلافات غیر قابل کشف

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

در رشد کشت تخم ، مایه کوبی در کشت رشد ، و غیره . تمام اینها می توانند باعث تغییراتی در سطوح و انواع بروز متابولیت ثانویه گردند .

۵-۲ : جداسازی مانیورهای اسکوآلستاتین :

یک مثال از این روش از سوی گروهی از متابولیت ها ارائه شده است . اسکوآلستاتین (که اسیدهای زارآگازیگ نیز نام دارد) از قارچ .P homasp جدا شده است (شکل ۱) . عصاره های این ارگانیسم فعالیت بازداری سنتز اسکوآلین رادارا هستند و استخراج باعثجداسازی ایکوآلستاتین هایی گردیده است که در حدود ٤ تا بودند .

بعضی از این متابولیت ها در فراوانی نسبی استخراج شده اند ولی مابقی فقط در مقادیر کم یافت شده اند به گونه ای که نمی توان آنها را از عصارهٔ اولیهٔ ۲۰۰ ml جدا کرد . اگر چهاین مثال یک حالت بی نهایت است متابولیت های مربوطهٔ بیشتری از استخراج های تکراری یافت شده اند حتی آنهای که مستلزم افزایش مقیاس هستند .

۳- افزایش بروز ژن :

یک روش کلی تر تولید آنالوگ ها و یا متابولیت های مربوطه تلاش برای افزایش بوز ژن متابولیت ثانویه به منظور افزایش دامنهٔ تشکیل محصولات می باشد . اگر چه هیچ مفهوم مشخصی از متابولیسم ثانویه وجود ندارد مشخص است که تولید متابولیت ها بسته به محیط فیزیکی و شیمیایی ارگانیسم متغیر است . در سیستم های میکروبی ،

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

شروع متابولیسم ثانویههمزمان با پایان رشد فاز g ۱۰ و شروع ایویوفاز می باشد که این به نوبهٔ خود نتیجهٔ محدودیت مواد غذایی خاص است . ماهیت این ماده غذایی محدود و دیگر مواد غذایی موجود در محیط می تواند تعیین کنندهٔ متابولیت های ثانویه تولید شده باشد . این عملکرد از طریق فرآیندهایی مانندمهار و یا باز داشتن مسیرهای متابولیکی ثانویه صورت می گیرد . به عنوان مثال کنترل متابولیت کربنبا گلوکز نشان داده می شود و این گلوکز بروز سنتز فنوکسازینون را فرو می نشاند و بنابراین تولید آکتینومیسن در Streptomyces qntibioticusمهار می شود . سطوح بالای آمونیم تشکیل تیلوسین را با Streptomyces Fradiae و تشکیل سفالوسپورین را با Streptomyces Clavuligerus مهار می کنند . سطوح بالای فسفات غیر آلی آنزم های موجود در سنتز تتراسایلکین ها ، کاندیسیرین ، نئومایسین و استرپتومایسن را از کار می اندازند . غلظت های فلزات اثر (مانند آهن ، روی ، کبالت)اثر مهمی بر تولید متابولیت دارند . دیگر ترکیبات ممکن است تولید متابولیت های ثانویه را افزایش دهند. این ترکیبات عبارتند از مولکول هایی که بیشتر وجود دارند مانند آمینو اسیدهای مختلف که می توانند مؤلفه های متابولیت ها باشند ویا ترکیباتی که کمتر شایع هستند مانند مولکولهای خود تنظیم کننده که نقش مهمی در ویژگیهای مربوطهٔ تمایز و مفهوم حد نصاب ایفا می کنند مانند ضریب A ، پامامیسین . به طور کل فرآیندهایی که متابولیسم

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ثانویه راتنظیم می کنند به درستی شناخته نشده اند این یک متابولیسمی است که نقش بیولوژیکی آن هنوز مشخص نیست . کافی است که بگوییم بسیاری از پارامترهای فیزیکی و شیمیایی می توانند بر تولید متابولیت ثانویه اثر بگذارند و روش انجام این عملکرد برای هر ارگانیسم و متابولیت جدید به روش تجربی تعیین شده است .

بنابراین تغییر این عوامل می تواند باعث تولید متابولیت های بیشتری نسبت به آن چیزی گردد که توسط یک ارگانیسم تحت یک سری از شرایط تولید شده است . این عملکر برای میکرو ارگانیسم ها بهتر انجام می شود اگر چه تولید متابولیت ثانویه توسط دیگر ارگانیسم ها تحت تأثیر محیط داخلی آنها است . در مورد این جنبهٔ میکروبیولوژیکی چیزهای زیادی نوشته شده است (به عنوان مثال مرجع ٦) و در این جا به تفصیل بررسی نمی شود . ولی تعدادی از مهمترین عواملی که بر تولید متابولیت اثر می گذارند عبارتند از :

۱- محیط : کنبع کربن ، منبع نیتروژن ، منبع فسفر ، نسبت های C/N/P، سطوح مواد غذایی اثر .

۲- خود تنظیم کننده ها (مانند ضریب A ، پامامایسین)

۳- شرایط فیزیکی ، کشت مایع تکانی ، کشت مایع ایستاتیک ، کشت حالت جامد

٤- سطوح اکسیژن

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۵- سرعت رشد

٦- دما

۷- PH

یک قانون کلی این است که قرار دادن یک ارگانیسم در معرض اشکال مختلف فشار می تواند باعث افزایش دامنهٔ متابولیت های ثانویهٔتولید شده گردد . اگر هدف عبارت باشد از جدا کردن تعداد زیادی از متابولیت ها از یک میکرو ارگانیسم ، آن ارگانیسم باید همیشه در بیش از یک محیط رشد کند و یا در بیش از یک شکل رشد نماید (مانند حالت جامد و مایع تکانی) . روش هایی برای هدف ویژه تر عبارتست از افزایش تولید یک متابولیست خاص که در فصل ١٤ بررسی می شوند .

٤- بیوسنتزی بلوکی :

١-٤ : جهش یافته های بیوسنتزی :

نسل حاصل از ارگانیسم تولید کنندهٔ نژادهای جهش یافته که در مسیر بیوسنتزی تغییر کرده است می تواندباعث جداسازی متابولیت های مربوطه ای گردد که نمی توانند در غیر این صورت و به روش دیگر بدست آیند . این متابولیت ها می توانند از مسیر بلوکه ای باشند که فقط در مقادیر اثر قابل کشف هستند و یا ممکن است متابولیت های Shunt نشان دهند . بدین ترتیب مواد میانی یک مسیر متفاوت بیوسنتزی در پیش می

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

گیرند و ترکیباتجدیدی بهوجود می آیند . محصولات چنین جهش یافته هایی می توانندمورد توجه خاص باشند یا این که ممکن است در مطالعات بیوسنتزی ، و آزمایشات تغییر شکل زیستی استفاده گردندو یا نقطه آغازی برای بیوسنتز در جهت پیش ماده باشند .

این در ساده ترین شکل خود مستلزمهش مواد جداسازیهای ارگانیسم و جستجوی تغییراتی در سطح و نوع متابولیت ثانویهٔتولید شده در جداسازیهای حاصل می باشد . جهش می تواند با استفاده از نور uv و یا جهش زای شیمیایی و یا با استفاده از محیط انتخابی صورت گیرد .نقص مواد غذایی ـ یا دارای سم ـ و بدین ترتیب نژادهای ارگانیسم هایی که ساختار ژنی تغییر یافته دارند جدا می شوند و در چنین محیطی باقی می مانند و در نهایت تغییری از متابولیت های ثانویه حاصل می شود . همین اثر می تواند با استفاده از مهار کننده های آنزیمی که مسیر بیوسنتزی را در مراحل خاص مسدود کرده اند حاصل شود .

۱-۱-٤ : جهش یافته های بیوسنتزی پرادیمیسین :

هاگهای Actinomadura Uerrucosospora زیر گونهٔ neohibisea ، یک تولید کنندهٔ پرادیمیسین انتی بیوتیک دی هیدروبنزونافتاسین کوئینون ، با نور uv و یا N – متیل – N – نیتر و – N – نیترو سوگوآنیدین جهش یافتند . وقتی پرادیمیسین یک رنگدانهٔ

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

قرمز باشد جهش یافته ها ابتدا از ۱۰۰۰۰ کولونی بر اساس تولید رنگدانه های غیر قرمز و یا بی رنگ انتخاب می شوندو این ها در طبقاتب قرار می گیدند که هر یک مواد میانی در یک مرحلهٔ خاص در مسیر انباشته کرده اند و یا متابولیت های جدید Shunt تولید نموده اند . از این نژادها ۸ متابولیت جدید جدا شد و تعدادی متابولیت مشخص نیز جدا گردید .

۲-۱-٤ : جهش یافته های بیوسنتزی آکاراسینومایسین :

به طور مشابه ، جهش یافته های Streptomycps galilaeus که طبقهٔ دیگری از آنتراسایکلین های گلیکوسیدی ، آکاراسینومایسین ، راتولید می کنند (شکل ٤) تعدادی متابولیت جدید نیز تولید خواهند کرد . این ها عبارتند از آنترا سایکلینونهای جدیدی که بدون شکر هستند و آنهایی که ترکیباتی از شکر های متفاوت دارند. بعضی از آنها قادر بودند که فقط یک شکل از آگلیکون تولید کنند. مابقی نمی توانستند رودوزامین را ذخیره کنند زیرا آنالوک هایی تولید می کردند که این شکر را نداشتند . مابقی نمی توانستند به هیچ طریقی رودیتوز را ذخیره کنند از همین برنامه تعدادی نژاد جدا شد که قادر به تولید آلکاسینومایسین A در یک غلظت ۳۰ برابر بیشتر نسبت به نژادهای موجود بودند .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۳-۱-٤ : آنالوگ های تریکوتسین :

تریکوتسین ها خانواده ای از متابولیت های قارچی سمی هستند و سم T- ۲ مهمترین تریکوتسین تولید شده توسط قارچ Fusarium Sporotrichioides می باشد (شکل ۵) . برماند و دیگران در تحقیق پیرامون بیوسنتز این متابولیت اوکسوتروف های آمینو اسیدی بسیاری تولید کردند و فهمیدند که این جهش یافته دو آنالوگی تولید کرده است که فقط در سطوح قابل کشف پر زحمت در نوع وحشی قابل رؤیت هستند . غلظت های نسبی T- ۲ و آنالوگ های آنها می توانند با کنترل غلظت لئوسین در محیط تغییر کنند و این نشان میدهد که متابولیست ها از نوع shuntبوده اند و مقام ۳ ترکیب از یک واسطهٔ مشترک حاصل شده اند.

۲-٤ : بازدارنده های آنزیم :

بازدارنده های آنزیم می توانند برا ی تولید اثری همانند جهش یافته ژنیتکی به کار روند یعنی مسدود کردن یک مسیر بیوسنتزی . این بازدارنده ها می توانند منجر به تشکیل واسطه های گذرا و یا محصولات Shunt گردند . چنین بازدارندگانی عبارتند از سرولنین که از سنتز اسید چرب جلوگیری می کند و از سنتز مشابه پلی کتید نیز ممانعت به عمل می آورد و سینفانجین ها و ایتونین ها که از انتقال گروههای میتونین جلوگیری می کنند . گروه مفید دیگر بازدارنده ها آنهایی هستند که سیتوکروم های P ٤٥٠ را مهار می کنند

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

. این سیتوکروم ها گروهی از آنزیم هایی هستند که واکنش های اکسیدی در بسیاری ا ز ترکیبات انجام می دهند. این بازدارنده ها عبارتند از آنسیمیدول در تحضیر قارچ Gibberella Pulicaris به منظور مسدود کردن تولید تریکوتسن ها و دسترسی به دیگر تریکودین های ناپایدار میانی .

۵- بیوسنتز مستقیم :

روش بهتری برای تغییر ارگانیسم جهت تولید آنالوگ ها و مشتقات آنهاوجود دارد .بیشتر متابولیت های ثانویه در بیشتر موارد از واحدهای ۵-کربن ایزوپرنیل ساخته می شوند . پلی کتیدها از واحدهای استات حاصل می شوند و یا از واحدهای فرمیل ، استات یا مالونیل . گروههای آروماتیک از یکی از آمینو اسیدهای آروماتیک مشتق می شوند مانند تیروزین ، فنیلالانین و یا تریپتوفان که خود از اسیدتیکمیک و یا از واحدهای استات بدست می آیند . الکالوئید ها نیز تا حد زیادی از تعدادی آمینو اسید بدست می آیند مانند تیروزین ، فنیلالانین ، تریپتوفان ، لیسین و یا اورنیتین و همچنین از واحدهای استات ، موالونات و تعدادی از پیش ماده های سادهٔ دیگر . تأمین ارگانیسم ها با آنالوگ های پیش ماده ها و یا واسطه های یک متابولیت ثانویه می تواند گاهی اوقات باعث تغییر با وسیله بیوسنتری ارگانیسم در یک متابولیت جدید ثانویه گردد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

در این روش معلوماتی موردنیاز است و یا حداقل پیش فرضیاتی در مورد مسیر کلی بیوسنتزی که متابولیت با آن تشکیل شد ه است . معمولا این امکان وجود دارد که حدسهایی در مورد اصل و منشأ بیوسنتزی یک مولکول ارائه کرد به خصوص وقتی اطلاعات بیوسنتزی در مورد مولکولی با ساختار مشابه در دسترس باشد . این تئوریها می توانند با استفاده از پیش ماده های نامگذاری شدهٔ ایزوتوپیکی ازمایش شوند. این حقیقت نیز نقش دارد که آنزیم های بیوسنتزی آنقدر خاص نیستند که همه را به جز پیش مادهٔ طبیعی استثنا کنیم . خوشبختانه آنزیم های متابولیسم ثانویه کمتر از آنزیم های متابولیسم اولیه تخصصی شده اند.

۱-۵ : Mutasynthesis :

همان طور که در زیر عناوین ۱-٤ گفته شد محصولات یک جهش یافتهٔ بیوسنتزی می توانند به نوبهٔ خود مهم باشند ولی به علاوه جهش یافته و یا تولیدات آن می توانند بیشتر استفاده شوند . جهش یافته می تواند به عنوان یک سیستم واکنشی استفاده شود که یک شکل تغییر یافتهٔ واسطهٔ بلوکه شده در آن تغذیه می شود یعنی محصول آنزیم بلوکه و یا بلوک های ساختمانی و سازندهٔ بعدی .

با فرض این که این تنها مرحله بلوکه در مسیر است و مابقی آنزیم های مسیر عمل می نمایند انزیم ها می توانند بر واسطهٔ تغییر یافته عمل کنند بدون رقابت از سوی

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

سوبستراهای طبیعی جهت تولید یک محصول اشنقاقی نهایی Mutasynthesis اصطلاحی است که برای اشاره به این فرآیند تغذیه و مسدود کردن استفاده می شود . واسطه های بلوکه می توانند در دیگر ارگانیسم ها به روش منطقی تغذیه شوند . مثلا در ارگانیسم هایی که معمولا یک پیش ماده مربوطه را تغییر می دهند – بدین ترتیب متابولیست های هیبریدی بدست می آیند . این فرآیند Mutasynthesis به معلوماتی در مورد مرحلهٔ بلوکه نیاز دارد و آنزیم های بیوسنتزی برای پذیرش آنالوگ های سوبسترا تخصص کافی ندارد .

۲-۵ : روش شناسی :

یک مزیت این روش این است که وقتی یک مسیر مفروض بیوسنتزی تشریح شد و آنالوگ های مناسب پیش ماده بدست آمدند چند روش آزمایشگاهی اضافی غیر از آنهایی که برای جداسازی متابولیت های والد و اصلی وجود داشته اند به وجود خواهند آمد .

۵- آنالوگ پیش ماده به عنوان یک محلول تغلیظ شد آبی که بافیلتر استرلیزه شده و تحت شرایط ضد عفونی تهیه گردیده است. اضافه می شود .با این وجود اگر ترکیب در آب محلول نباشد در حجم کوچک حلال آلی ویا حتی به عنوان یک جامد اضافه ی شود این می تواند به محض ورود به محیط آبی باعث رسوب ترکیب

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

گردد ولی آزمایش را مختل نمی کند . این ترکیب می تواند محلول باشد و در حقیقت به عنوان یک مادهٔ غذایی بارهش کم فرض شود.

۶- در حقیقت یک پیش مادهٔ مصنوعی مسائل مربوط به جذب خودرا در غشای سلول منعکس نمی سازد و شاید لازم باشد که شرایط جهت تولید یک سیستم بدون سلول و یا کشت سلول آرام تغییر کند. مورد مستلزم رشدکشت در فاز ثابت است که سلولها را از محیط مایع با عمل سانتریفوژ جدا می کند سپس سلولها را خرد می سازد و در یک بافرایزوتونیک که آنالوگ های پیش ماده به آن اضافه می شوند در حالت تعلیق مجدد قرار می دهد . این مایع دیواره های سلولی را از بین می برد و دسترسی مولکولهای پیش ماده را به آنزیم های بیوسنتزی ممکن می سازد .

در کشت های سلول آرام ، سلولهای کشت فاز ثابت با سانتریفوژ از محیط مایع جدا می شوند و سپس شسته شد . و دوباره در سانتیفوژ قرار می گیرند و در بافر و یا محیط مینیممی که پیش ماده به آن اضافه می شود دوباره معلق می گردد . بنابراین سلولها با حذف تمام سوبستراهای برون زاد دست نخورده وزنده هستند ولی بی اثر می باشند . با وجود عملکرد مسیرهای متابولیکی و بیوسنتزی ،احتمال جذب پیش ماده وتغییر آن افزایش می یابد . یک مزیت اضافی این است که سیستم سلولی شسته شده تمیز تر از کشت سلول اولیه است و این خالص سازی را ساده تر می سازد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

شاید مسائلی در رابطه با تبدیل متابولیست به شکل فعال وجود داشته باشد . ایـن تبـدیل برای آن است که متابولیست با آنزیم های مربوطه حمل شده و شناسـایی گـردد . دیگـر ترکیبات می توانندبه سرعت متابولیزه شوند و با مسیرهای متابولیسم اولیـه خـرد گردنـد قبل از این که بتوانند به متابولیست ثانویه تبدیل گردند .

۲-۲-۵: تحلیل محصولات بیوسنتز مستقیم :

شاید یک سیستم سنجش برای کنترل محصول طبیعی در طـی جداسـازی اولیـه توسـعه یافته باشد و این سیستم تحلیل محصول تغییـر یافتـه را عملـی مـی سـازد . بـا مقایسـهٔ کروماتوگرام عصاره ارگانیسم تغذیه شده با پـیش مـاده بـا کروماتوگرام یـک ارگانیسـم کنترلی تغذیه نشده می تـوان پیـک هـا را در مـورد مطـابق محصـول تغییـر یافتـه و یـا سوبسترایی که در کنترل یافت نمی شوند کشف نمود . با این وجود اگـر یـک محصـول تغییر یافته با سیستم تحلیلی کشف شود بدان معناست که پیش ماده تغییر نکرده اسـت و یا این که محصول تغییر یافته از محصول طبیعی جدا نشـده اسـت . ایـن مسـئله بـا ایـن حقیقت همراه است که هیچ استانداردی از ترکیـب موجـود در دسـترس نخواهـد بـود . تفکیک ترکیبات Coeluding می تواند مستلزم استفاده از HPLC گرادیانی و یا اسـتفاده از اختلاف بیشتر بین محصولات طبیعی و تغییر یافته باشد به وسیلهٔ LC-MS-یک روش ایده ال برای چنین تحلیلی وجود اتم خاص مانند هالوژی و یا یک اکسـیژن اضـافی مـی

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تواند به راحتی با این روش کشف شود . تغییر پیش ماده دارای فلوئورین می تواند با استفاده از FNMP دنبال شود . هر متابولیت دارای فلوئورین یک پیک واحد با تغییر مشخصه به یک طیف FNMR ارائه می کند و این روش بدون سیگنال هایی از هر مولکول دیگر یک روش ساده و غیر مبهمی است که برای تولید متابولیت های دارای فلوئورین در یک مخلوط کمپلکس به کار می رود .

۳-۵ : بیوسنتز پیش ماده ای اسکوآلستاتین ها :

اسکوآلستاتین ها که در بخش قبل توصیف شدند یک مثال از این نکته هستند که چطور علم به مسیرهای بیوسنتزی می تواند محصولات بیوسنتزی مفیدی ارائه دهد .

مولکولی که ابتدا ظاهر می شود ماهیتا پلی کتید است و به منظور ازمایش این فرضیه و تأیید تصل بیوسنتزی قطعات مؤلفه این مولکول ، ارگانیسم تولید کننده – – Phomasp با واحدهای ایزوتوپیکی استات در شکل (^{13}C -۱) ، (^{13}C -۲) ، (^{13}C ۲ – ۲و۱) تغذیه می شود . اینها نشان می دهند که ساختار مولکول از دو زنجیرهٔ پلی کتید به وجود آمده است و این زنجیره ها از واحدهای استات هستند . ٤ کربن باقی ماندهٔ ساختار حلقه ای ۲ چرخه از (کربن های ۲، ۳،٤،۲۲) که از مطالعات جفت سازی NMR اشکار شده اند به عنوان واحدهای دست نخورده مجاور مشتق شده از استات در یک سطح پایین تر از بقیه تغییر کرده اند و این متابولیسم استات را از طریق چرخهٔ TCA در یک واحد ٤

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

کربنی نشان می دهد . در حقیقت تغذیهٔ (^{13}C Suecinatc – ۳و۲) باعث تغییر این ماده می گـردد . دیگـر کـربن هـا (۱۹ ، ۲۰ ، ۳۲ ، ۳۳) از واحـدهای کربنـی در شـکل– S اونوزیل میتونین مشتق می شوند . بخش آروماتیک این مولکول بـا تغذیـه اشـکال C دار فنیلالانین و اسید بنزوئیک بررسی شده است و در نهایت هر دوی ایـن ترکیبـات دچـار تغییر شدند ولی تغییر بالای اسید بنزوئیک نقش آنرا به عنوان واحد آغـازگر بیوسـنتز بـه دنبال تشکیل آن از فنیلالانین نشان می دهد .

به طور خلاصه ساختار این خانواده از مولکولها از افزایش بلوکهای ساختمانی استات بـه یک واحد آغازگر اروماتیکبه همراهتراکم آن تا یک اسید – کتودی کربوکسـیلیک ٤ کربنه به وجود آمده است . به دنبـال آن اسـتدی سـازی / اسیلاسـیون زنجیـرهٔ تتراکتیـد صورت گرفت و میتلاسیون نیز با کربن های مشتق شده از میتـونین و هیدروکسلاسـیون در C ۷ نیز انجام شد . اینها همگی یک اطلاعات کاملی بدست می دهند و این اطلاعات وسیله ای برای بررسی مسیر بیوسنتز ارگانیسم جهت تولید آنالوگ های ترکیب میباشند.

به چند دلیل ازن طور احساس می شد که نیمهٔ آروماتیک یک بخشی از مولکول را نشـان می دهد که برای دست کاری و تغییر به عنوان وسیلهٔ تولید آنالوگ مفید است . این نیمـه از یک مولکول سادهٔ کوچک مشتق شد ولی محل های زیادی برای تغییر داشت کـه ایـن خود باعص افزایش تولید آنالوگ ها می گردید . نشان دادیم کـه اسـید بنزوئیـک تغذیـه

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

کننده باعث تولید سطوح بالای تغییر در اسکوآلستاتین می گردد .این واحد آغازین بوده است و شاید با مسیرهای دیگر متابولیزه شده باشد . بدین ترتیب شانس کشف تغییرات بیشتر می گردد . در نهایت روش های دخیل در تغییر محل های خاص بر چنین گروههای اروماتیک پیچیده هستند و با ابزار شیمیایی به سختی انجام می شوند بنابراین محصولات ارزش زیادی دارند.

تعدادی انالوگ سادهٔ اسید بنزوئیک و فنیلالانین که به آسانی از سوی عرضه کنندگان مواد شیمیایی در دسترس قرار می گیرند به عنوان سوبسترا انتخاب شدند . اینها عبارتند از تعداد وسیعی از اسیدهای هیدروکسی و دی هیدروکسی بنزوئیک ، اسیدهای آمینوبنزوئیک، اسیدهای کلرو بنزوئیک ، اسیدهای یدوبنزوئیک و اسیدهای متوکسی بنزوئیک . تعدادی از ساختارها غیر از ساختارهایی کهحلقهٔ آروماتیک ٦ عضوی دارند نیز آزمایش شدند من جمله پیریدکربوکسی آلدئید ، اسدهای آلکیلیک کربوکسیلک ، اسیدهای نفتالین کربوکسلیک ، اسیدهای فروان کربوکسیلیک ،اسیدهای پتوفن کربوکسیلیک ، اسدهای نیترو ـ برومو و کلرو یتوفن کربوکسیلیک .

۱-۳-۵: روش :

تحقیقات مربوط به تغذیه نشان دادند که اسید بنزوئیک اضافه شده در زمان مایه کوبی تغییر نکرده بود بلکه وقتی در ۳،٤،٥ اضافه شد در سطوح بالایی تغییر کرد . این امر

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

شاید به علت این حقیقت باشد که ترکیب اضافه شدهدر do با فرآیند متابولیسم اولیه متابولیزه شد قبل از این که کشت به فاز ثابت برسد و متابولیسم ثانویه روی دهد .

نمونه ها به عنوان محلولهای آبی (٦/٢٥ mg/ml) اضافه شدند که با هیدرید سدیم و استریلیزهٔ صافی در PH خنثی تنظیم شدند. Ml ٢ بخش از هز یک از این محلولها به هر کشت اضافه شود ml ٥٠ تا یک غلظت نهایی پیش ماده در حدود mg/ml ٠/٢٥ بدست آید کشت ها در C ° ٢٥ با تکان دادن دوباره مایه کوبی شدند زیرا آنها برای اولین بخش تحضیر مناسب بودند . ٤ روز بعد (٧ روز بعد از آنکوباسیون) کشت ها برداشت شده ،تحلیل گردیدند و محصولات جداشدند .

تحلیل HPLC : نمونه های آبگوشت با یک حجم معادل استو نیتریل که دارای اسید سولفوریک (ml/l ٥) بود مخلوط شدند و سانتریفوژ گردیدند و در نهایت شناور با HPLC گرادیانی فاز معکوس ((اندازهٔ ذره ای Mm ٥) Spherisarbe 6با یک گرادیان ٪٥٠ – ٠ استونیتریل / آب با اسید سولفوریک (ml/l ٥٠)) تحلیل گردید .

تحلیل HPLC-MS : نمونه های ابگوشت برای تحلیل HPLC-MS با مخلوط کردن با یک حجم معادل استونیتریل که دارای اسید تری فلوئوو استیک بود (ml/l ٥) آماده شدند . این نمونه ها سانتریفوژ شدند و روشناور با یک روش HPLC ایزوکراتیک تحلیل گردید . این سیستم از طریق یک سطح مشترک اسپرو گرمایی به یک اسکبترمتر

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

جرمی وصل شد . با استفاده از شرایط HPLC در حقیقت می توان بین اسکوآلستاتین ۱ و آنالوگ فلوئورنیه آن تمایز قائل شد زیرا آنها با هم شسته می شوند ولی می توانند با MS شناسایی شوند .

خالص سازی آنالوگ ها طبق قبل با استخراج حلال ، جذب سطحی ، و شستشو از یک ستون Amberlite XADH صورت گرفت و به دنبال آن بارگیری نمونه به یک ستون HPLC تدارکاتی صورت گرفت . این ستون با ٪ ۲۵ استونیتریل /آب شسته شود پس اسکوآستاتین ۱ و آنالوگ ها با ٪ ٦۰ استونیتریل / آب شسته شدند. یک مجوعه از مراحل نهایی HPLC تدارکاتی برای تفکیک هر یک از آنالوگها و ترکیب والدانجام شد . تولیدات جدا شده در شکل ٦ نشان داده شده اند.

بنابراین در مورد فوق ، تولید این اسکوآلستاتین های فلوئورینه و یتوفنیلات موارد زیر را الزامی می سازد :

۱-نظریه بیوسنتز به منظور انتخاب یک دامنه معقولی از آنالوگ های مناسب پیش ماده

۲- بهینه سازی ساده شرایط تغذیه . این در ساده ترین شکل خود مستلزم تعیین نکات زیر است .

الف) افزایش ستونها در مایه کوبی یعنی در شروع فاز رشد و ار طی آن و بعد از چند روز رشد زمانی که رشد فاز g ۱۰ متوقف شد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

ب) استفاده از مقام سلولها و یا کشت سلول شسته شده و یا سیستم بدون سلول برای تغییر مطلوب

۳- یک روش برای کشف تغییر مانند . NMR,TLC,GC-MS,LC-MS,LC

٤- یک روش برای خالص کردن تعدادی از ترکیبات نزدیک به هم .

مثال فوق عدم موفقیت را در تولید متابولیت ها نشان می دهد و این متابولیست ها به عنوان نسبت پایینی از آنالوگ های پتانسیلی پیش ماده در مولکول نهایی اسکوآلستاتین تغییراتی ایجاد می کنند .

بنابراین محل فعال یک یا چند آنزیم بیوسنتزی تخصص یافتگی کم را نشان می دهد . چرا فقط اسیدهای فلوئوروبنزوئیک از نظر ساختاری شبیه به آنالوگ های سوبسترای طبیعی است . فلوئورین یک اتم بی اثر است و با هیدروژن isosteric می باشد . معلوم نیست که چراتیوفن ها باید تغییر کنند .

دلایل ممکن می توانند به قرار زیر باشند :

۱- ناتوانایی دیگر پیش ماده ها در قطع غشای سلولی . اگر یک سیستم بدون سلول استفاده شود بیشتر متابولیست ها تغییر خواهد کرد .

۲- اثر بازداری آنزیمی دیگر پیش ماده ها (افزایش تعدادی از ترکیبات با کاهش سطوح اسکوآلستاتین ارتباط دارد) .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۳- تعدادی از آنالوگ ها توسط مسیرهای متفاوت متابولیزه شدند.

علاوه بر تغلیظ در نیمهٔ اروماتیک باید به بخش های دیگر مولکول که از چنین واحد C – ٤ ناشی می شوند توجه کرد . این واحد شامل بخشی از هستهٔ دوچرخه ای است و یا واحدهای استات تفاوت دارد . با این وجود با استفاده از واسطه ها در مسیر می توان موفقیت بیشتری بدست آورد .

٤- y : مثالهای دیگر :

مثالهای فراوان دیگری از بیوسنتز پیش ماده ای وجود دارد که در برگیرندهٔ محصولاتطبیعی با منشأ بیوسنتزی متفاوت می باشند . بسیاری از افراد از واسطه های حاصل از مراحل بعدی در مسیر بیوسنتزی استفاده کرده اند . تا از مثالهای ایکوآلستاتین

۱-٤-۵ : A54745 :

این گروه از آنتی بیوتیک های بیپوبیتید توسط Streptomyces Fradiae که آنالوگ های زیادی تولید می کند به وجود آمدهاست . این آنالوگ ها با تغذیهٔ اسیدهای چرب مختلف حاصل می شوند (شکل ۷) . به علاوه ،نسبت های متابولیست های مختلف طبیعی می تواند با افزایش والین و یا ایزولئوسین کنترل شود .

۲-٤-۵ : میتومایسین ها :

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

این گروه از محصولات طبیعی از مسیر Shikimate مشتق می شوند و توسط Strepomyces Caeapitosus تولید می شوندو در نهایت شباهت زیادی با تغذیه ارگانیسم توسط آمین های اولیه به وجودخواهد آمد . اینها در شکل ۸ خلاصه شده اند .

۳-٤-٥ :سیکلوسپوزین ها :

سیکلوسپوزین ها طبقه ای پپتیدهای چرخه ای هستند که با Beauvaria nivea تولید می شوند و این ارگانیسم دارای فعالیت immunosuppressant است آنها تعدادی زیادی اشکال تغییر یافته با تغذیه آنالوگ های بلوک ساختاری آمینو اسید طبیعی تولید کرده است . تعداد زیادی از مشتقات از طریق این روش با تغییر در تمام محل های آمینو اسید تشکیل شده اند و با انجام این فرایند در سیستم بدون سلول مشتقات بیشتری بدست آمد. این ها با تغذیهٔ پیش ماده در تمام ارگانیسم تولید نمی شود زیرا آمینو اسیدهای دخیل به طور طبیعی متابولیزه شده اند (شکل ۹) .

دامنهٔ مثالهایی که از محصولات طبیعی اشتقاق یافته از آمینو اسید بدست آمده اند عدم تخصصی شدن این آنزیم ها را در بیوسنتز پپتیدی در مقایسه با سنتز پروتئین ریبوزوم نشان می دهند.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

٤-٤-٥: آورمکتین ها : یکی از موفق ترین تلاش ها در تولیدآنالوک های یک محصول طبیعی ، از جدایی یک جهش یافته ارگانیسم تولید کننده آورمکتین Strepomyces avcrnitlis

انواع آورمکتین های q ، b جانشین های ۲۵ ـ C خود رااز اینرولئومین و والین بدست و آورنده این عملکرد از طریق تغییر این ترکیبات همانند مشتقات کوآنزیم A ایزوبوتیریک و اسیدهای ۲ـ میتل بوتیریک انجام می شود . این جهش یافته دارای فعالیت عملیاتی ۲ ـ اکسی اسید ای هیدروژناز زنجیری شاخه ای می باشد و نمی تواند این واحدهای آغازگر بیوسنتری را تغییر دهد . وقتی تحضیر با اسیدهای کربوکسیلیک زنجیری شاخه ای تکمیل نشد هیچ آرومکتین تولید نمی شود. با این وجود تغذیه چنین اسیدهایی در تحضیر باعث تولید تعداد زیادی آورمکتین می گردد که در محل۲۵ – C با جانشین کننده اسید مربوطه تغییر کرده است طبق شکل ۱۰ . آنالوگی که دارای نیمه سایکلوهکسیل در محل ۲۵ ـ C است اکنون به طور تجاری با این فرآیند بدست می آید و به عنوان ضد انگل ، دورامکتین ، بازاریابی می شود.

٥-٤-٥: تغذیه پیش ماده های طبیعی :

این روش کلی تغذیه پیش ماده ها می تواند فقط برای افزایش سطوح متابولیت طبیعی باتکمیل کشت توسط پیش ماده های طبیعی استفاده شود . این عملکرد با مثال سادهٔ

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تولید پیرولنتیرین توسط Pseucomonas aureofaciens تشریح می شود و با افزایش تریپتوفارن برون زاد ، پیش ماده مستقیم پیرولنتیریل ، افزایش یافت (شکل ۱۱) . افزایش آنالوگ های تریپتوفان باعث تولید آنالوگ های مربوطهٔ پیرولنتیریل گردید .

۶-٤-۵: هالوژناسیون :

غیر از روش توصیف شده در زیر عنوان ۳-۵ ، هالوژن دیگر می توانند مستقیمابه جای تولید طبیعی با استفاده از فعالیت هالوپروکسید از ارگانیسم های متفاوت استفاده شوند . ارگانیسم هایی که متابولیست های دارای کربن تولید می کنند می توانند برای تولید همان متابولیت ها در یک شکل برومینه با افزایش منبع غیر آلی برومین بدست ایند مانند برمید سدیم و یا برمید پتاسیم . هالو پروکسیدازی که این واکنش را انجام می دهد غیر تخصصی است و می تواندبه آسانی از برومین به جای کلرین استفاده کند . مثالها عبارتند از متابولیت های Monitinia Fracticolla که به دنبال افزایش محیط NaBr(۱ g/l) به آنالوگ های بروموی خود تبدیل شدند .

۶- تغییر شکل زیستی :

روش دیگر افزایش تنوع حاصل از یک محصول طبیعی استفاده از دیگر سیستم های بیولوژیکی است به شکل آنزیم های جدا شده و یا تمام سلولی جهت تغییر مولکول این فرایند در ساده ترین شکل خود مستلزم انکوباسیون محصول طبیعی جدا شده با یک یا

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

چند کشت میکروبی باشد. بنابراین آنزیم های هر ارگانیسم می توانند هر ترکیب عمل کنند و اشکال تغییر یافته را تولید نمایند. این روش تولید تنوع شیمیایی از یک محصول طبیعی شبیه به یک برنامه تغییر شیمیایی است با این تفاوت که شیمی دانان در این حالت میکروارگانیسم هایی هستند می توانند واکنش های خاص استرو و یا واکنش خاص محل را انجام دهند در حالی که این واکنش ها توسط انسان به سختی صورت می گیرند. به عنوان مثال هیدروکسیداسیون شیمیایی یک گروه آرماتیک ویا در هر نقطه خاص هرمولکول می تواند مستلزم مراحل حفاظی وغیر حفاظی باشد ولی می توان یکارگانیسمی یافت که تغییر شکل مطلوب را انجام ددهد .این به خصوص با محصولات طبیعی که در زمینهٔ شیمی سنتزی ،مولکولهای بزرگی یا عاملیت های زیاد و مراکز کایرال هستند مفید میباشد.

نقص اصلی سیستم های تغییرشکل زیستی این است که فرآیند خیلی قابل پیش بینی نیست به جزء گاهی اوقات در مورد آنزیم های خالص واکنشی را انجام می دهند ویا معلوماتی نسبت به تغییرات کلی در نوع خاصی از یک ترکیب داشت ،چنین قوانین جربی مطلق و یا پیش بینانه نیستند به منظور افزایش شانس دسترسی به یک محصول و یا دسترسی به بالاترین درجهٔ محصولات ، لازم است که از ارگانیسم های زیادی در غربال اولیه استفاده شود.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

به طور خلاصه می توان از متابولیست ثانویه بیوسنتز مختلف ومسیرهای متابولیکی اولیه وآنزیم های مربوط به ارگانیسم های خاص استفاده کرد می توان بـه ایـن ارگانیسـم هـا محصولات طبیعی را ارائه کرد.

۱-٦ ک روش ها :

یک طرح کلی برای انجام تغییرشکل های زیستس در یک محصول طبیعی عبارت است از :

۱- غربال اولیه برای شناسایی ارگانیسم هایی که ترکیب را تغییر شکل می دهند.

۲- انکوباسیون ترکیب باتعدادی از ارگانیسم ها در امتداد یک مجموعـه از خطـوط کنترلی.

۳- تحلیل عصاره های هر دومجموعه کشت. متابوایست ها در کشت تغذیه شد . که در کنترل دید نمی شوند. می توانند با سوسترا در ارتباط باشند.

٤- جداسازی متابولیست ها از این کشت های مقیاسی بزرگ.

مسائل مربوط به عملکردهای تغییرشـکل زیسـتی همانندمسـائل بیوسـنتز پـیش مـادامی هستند . تحلیل اولیه روندهای جداسازی تدارکاتی به جداسازی اولیـه محصـول طبیعـی استفاده می شوند.

۱-۱-٦ : چه چیز باید تغذیه شود:

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

اگر هدف عبارت باشد از تولید یک مشتق خاص یک محصول طبیعی لازم است که آن محصول طبیعی و یا متابولیست های مربوطه ای را که از نظر ساختاری به ترکیب هدف نزدیکتر هستند تغذیه کنیم . اگر هدف عبارت باشد از تولید وسیع ترین دامنهٔ آنالوگ ها ، محصول طبیعی باید به عنوان مادهٔ آغازین استفاده شود . با این وجود ارزش آنرا دارد که استفاده از آنالوگ ها را به عنوان مادهٔ آغازین در نظر بگیرید در صورتی که آنها در دسترس باشند (و به خصوص درصورتی که محصول طبیعی خود ذخیره محدودی داشته باشد) تغییرات در سوبسترای اصلی می توانند در آنالوگ ها نیز روی دهند . بنابراین تغییرات مربوطه در ساختار اصلی چند برابر می شوند.

استفاده از سوبسترای – radiolabeled شاید با اتم ^{3}H یا ^{14}C – می تواند در مرحله تحلیل مزیت هایی داشته باشد زیرا شناسایی متابولیت های مربوطه را در یک مخلوط کمپلکس آسان می کند .

۲-۱-٦: ارگانیسم ها :

ارگانیسم هایی که می توانند برای تغییر شکل زیستی استفاده شوند بی نهایت هستند . بهترین روش جدا کردن ارگانیسم ها برای یک تغییر شکل زیستی خاص است ، شاید توانایی جداسازیهای متفاوت در استفاده از سوبسترهای خاص به عنوان یک منبع کربن انحصاری در نظر گرفته شود . با این وجود عملا آسانتر است که از ارگانیسم هایی

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

استفاده کنید که تغییر شکل دهنده زیستی بوده اند . صدها گزارش از واکنش های خاص که توسط ارگانیسم های خاص انجام شده اند یافت شده است و بسیاری از این ارگانیسم ها به آسانی از کلکسیون های استاندارد کشت میکروبی بدست می آیند . پر استفاده ترین میکروارگانیسم ها منجمله قارچ ، اکتینومایسیت ها ، و باکتریهای غیر رشته ای که در انجام تغییر شکل زیستی تنوع داشته اند و از کلکسیون های اصلی کشت به دست می آیند در جدول ۱ لیست شده اند . ارگانیسم های دیگری نیز در این لیست قرار می گیرند که انواع واکنش هایی را انجام می دهند که مورد هدف ما بوده اند . دیگر ارگانیسم هایی که در این جا قرار می گیرند آنهایی هستند که محصولات طبیعی با ساختار مربوطه تولید می کنند بر این اساس که این ارگانیسم ها می توانند دارای آنزیم های متابولیکی ثانویه / بیوسنتزی باشند که بر این ترکیبات عمل می کنند .

کشت های سلولی حیوانی و گیاهی نیز می توانندااستفاده شوند اگر چه اینها نسبت به کشت های میکروبی کمتر مفید هستند .

گذشته از نوع ارگانیسم مورد استفاده شکلی که این کشت ها با آن استفاده می شوند نیز مهم است . انواع کشت ها عبارتند از :

۱- کشت های رو به رشد

۲- کشت های ثابت

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۳- کشت های سلول ساکن کشت های سلول شسته شده که با جدا کردن سلولها از یک محیط توسط عمل سانتیفوژو سپس تعلیق مجدد در بامز رقیق تهیه می شوند . سوسپانسیون های سلول شسته شده نیز استفاده می شوند زیرا در بسیاری از موارد اینها همانند کشت های ثابت عمل می کنند ولی دارای این مزیت هستند که مخلوط پیچیدگی کمتری دارد و ینابراین تحلیل و خالص سازی آسانتر می گردد .

٤- سیستم بدون سلول / سیستم سلول تجزیه شده ـ با تجزیه دیواره سلول ، سوبسترابه آنزیم های سلولی دست می یابد و مسائل نفوذ پذیری انتخابی حل می شوند . با این وجود بسیاری از آنزیم ها با این آسیب به دیواره سلول غیر فعال خواهند شد .

٥- کشت های متحرک – سلولها می توانند همانند آنچه که برای کشت ساکن دیده شد از محیط خود جدا شوند و سپس در یک پایهٔ جامد غیر متحرک شوند تا سیستمی بدست اید که برای سیستم های طولانی تر فعال است . عدم تحرک می تواند تحت تأثیر دامی در یک پلیمر ، جذب سطحی به یک پایه جامد ، چسبندگی کوالانسی به پایه همانند سلولز و یا اتصال عرضی شیمیایی با گلوتاراکوئید باشد . مزیت های عدم تحرک عبارتند از این که سیستم برای مدت نسبتا طولانی فعال است و می تواند برای بچ های مختلف دوباره استفاده شود . یک سیستم می تواند با

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

چگالی سلولی بالا تولید شود و محیط پیرامون نسبتا تحضیر خواهد بود و در نتیجه خالص سازی محصول سریعتر صورت می گیرد . همچنین در بعضی موارد واکنش تغییر شکل زیستی می تواندتحت تأثیر عدم تحرک واقع شود مثلا بر حسب شیمی فضایی .

٦- سوسپانسیون هاگ – چون هاگها دارای آنزیم های منحصر به فر زیادی هستند که به دیگر اشکال ارگانیسم بروز نمی کنند و چون آنها در بافر به مدت طولانی نسبتا پایدار و فعال هستند سوسپانسیون های هاگی اغلب سیستم های مفید تغییر شکل زیستی می باشند .

۳-۱-٦: شرایط تغذیه :

همانند شرایط بیوسنتز جهت دار ، هیچ قانون پیش بینانهٔ سفت و سخت برای شرایط ازمایشگاهی تغییر شکل های زیستی وجود ندارد اما گزارشات فراوانی هستند که نظریاتی در مورد بهترین روش های عملی بدست می دهند .

اگر چه جای کشت های بی نهایتی از غلظت های سوبسترا با زمان تغذیه با ارگانیسم های متفاوت وجود دارد شرایطی مانند مقدار سوبسترای موجود ، تعداد میکرو ارگانیسم ها ، مقدار فضای تکاننده و زمان همگی محدودیت های عملی ایجاد می کنند .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

نمونه :خود سوبسترا به کشت اضافه می شود تا غلظت ۰/۵ mg/ml و ۰/۲۵ mg/ml به عنوان یک غلظت استاندارد بدست آید . هدف در این جا عبارتست از افزایش ماده کافی آغازین جهت تولید بازده های متعدد محصولات تغییر شکل یافتهٔ زیستی در همان زمان که زیر غلظت هایی که سعی هستند باقی می مانند . این نمونه به عنوان یک محلول آبی اتوکلاو و یا استریل شده فیلتری و یا در حجم کوچکی از حلال الی اضافه می شود . اگر سوبسترا در اب محلول نباشد لازم است که آنرا ابتدا در حجم کلی از حلال الی حل نمایید . همان طور که قبلا گفته شد حتی اگر ترکیب فقط در آب محلول باشد می تواند تغییر شکل یابد . نوع و مقدار حلال مورد استفاده باید در نظر گرفته شود زیرا این حلال می تواند به سلولها آسیب بزند و دیواره سلولها را قابل نفوذ سازد و این خود در نهایت باعث کاهش فعالیت متابولیکی و یا افزایش تغییر شکل زیستی با تسهیل کردن جذب سوبسترا توسط سلولها ، می گردد .

زمان تغذیه وانکوباسیون : همانند بیوسنتز جهت دار ، دو نقطه بر منحنی رشد که برای افزایش سوبسترا مناسب هستند عبارتند از زمان انکوباسیون و شروع فاز ثابت . مورد دوم ارجحتر است زیرا با این زمان علظت سلولی بالایی وجود خواهد داشت بنابراین سوبسترا نمی تواند رشد کشت را مهار کند و این احتمال وجود دارد که سوبسترابا آنزیم

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

های متابولیسم اولیه و ثانویه متابولیزه شود بنابراین دامنه ممکن محصولات تغییر شکل زیستی افزایش می یابد .

یک روش بهتر تغذیه ضربه ای و یا تغذیه پیوسته می باشد . این امر پتانسیل سمیت را توسط ترکیب کاهش می دهد و می تواند شکل مواد غذایی روز مره را از مایه کوبی آغاز می شود و یا از پایان فاز g ۱۰ آغاز می گردد داشته باشد . تغذیه پیوسته با کمک ابزار پیشرفته و گران تحضیر و یا با استفاده از یک فتیله ، با یک پایانه در کشت و دیگر ی در محلول سوبسترا ، انجام می شود . هنگام تغذیه ، کشت چند روز به حال خود رها میشود تا واکنش ها روی دهند .

یک کشت باکتریایی می تواند از یک کشت تخم مایه کوبی شود و سپس به مدت ٢٤ ساعت درانکوباسیون قرار گیرد . در این مدت به پایانهٔ فاز رشد می رسد . سپس ترکیب سوبسترا به کشت اضافه می شود .

و به دنبال آن انکوباسیون مخلوط برای ۳ ، ٤ و حتی ۷ روز صورت می گیرد . کشت های قارچی دیرتر به فاز ثابت می رسند و شاید ۳ روز طول بکشد و بعد از آن چند روز به حال خود رها می شوند تا به تغییر شکل زیستی ماکزیمم برسند .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

٤-١-٦: عوامل دیگر :

چون فرآیندها و آنزیم های مربوط به چنین تغییر شکل زیستی اغلب با متابولیسم ثانویه ارتباط دارند هر شرط آزمایشگاهی دیگر که بر متابولیسم ثانویه اثر می گذارد باید در نظر گرفته شود .

١- محیط :

همان طور زیر عنوان ۲ گفته شد مهمترین عامل در این زمینه محیط است . گزارشات زیادی از روش اثر گذاری منبع غذایی بر متابولیسم ثانویه وجود دارد . چنین عواملی عبارتند از کربن ، فسفر ، و منبع نیتروژن ، سطوح و نسبت های آنها ، مواد غیر آلی موجود در محیط ، سطوح هوادهی / اکسیژناسیون ؛ حالت فیزیکی محیط (جامد یا مایع) . تنوع متابولیسم باید در نظر گرفته شود زیرا واکنش های تغییر شکل زیستی یک محصول متابولیسم ثانویه هستند .

به طور مطلوب محیط باید به گونه ای باشد که رشد پراکنده را توسعه دهد به صورتی که ارگانیسم به اطراف مجرا نچسبد و یا همانند حالت فارچ ها ، رشد در شکل دانهٔ سخت میسلیم باشد . شکل فیزیکی رشد ارگانیسم ها بر متابولیسم ثانویه اثر می گذارد و بسیاری از فلاسک های کشت دارای متغیرهای درونی هستند که پراکندگی ارگانیسم را

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

افزایش می دهند.اگر چه تشکیل دانه می تواند به سختی کنترل شود و شاید بر تغییر شکل زیستی اثر نگذارد یک دانه ابگریز است و برای انتشار سوبسترا کمتر نقش دارد .

اگر یک محیط واحد برای هر ارگانیسم استفاده می شود این محیط باید مایع باشد تا انتشار سوبسترا را ممکن سازد و در نهایت زیست تودهٔ بزرگی حاصل می شود و دارای Arkasoy است که فعالیت سیتوکروم ٤٥٠ p را افزایش می دهد .

۲- القای سیتو کروم های ٤٥٠ p :

این آنزیم ها یک خانواده از مونواکسیژناز هستند که در حیوانات ، گیاهان و بسیاری از میکرو ارگانیسم هایی که واکنش های زیادی انجام می دهند یافت می شوند . این واکنش ها توسط یک ارگانیسم انجام می شود در حالی که آن ارگانیسم باید ترکیب زنوبیوتیک روبرو شده باشد یعنی یک ترکیب نا آشنا برای ارگانیسم مانند یک دارو . این واکنش ها شامل آنهایی هستند که با تغییر شکل زیستی در ارتباط هستند مانند هیدروکسیلاسیون ، و دی میتلاسیون و واکنش های فراوان دیگری که مستلزم مزدوج شدن یک متابولیست با دیگر گروهها می باشند مانند اسید گلوکرونیک ، شکرها ، آمینو اسیدها و غیره .

در بیشتر موارد فعالیت سیتوکروم های ٤٥٠ p یک وسیله ای است که با آن ارگانیسم می تواند یک ترکیب خارجی را تغییر دهد تا آنرا قطبی تر و حلال تر در اب سازد و

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

بنابراین دفع آن راحتتر گردد. ما به عنوان دانشمندان محصولات طبیعی می توانیم فعالیت سیتوکروم ٤٥٠ p وسیله ای برای انجام واکنش های خاص استریو / خاص محل بر یک مولکول کمپلکس در نظر بگیریم تا بتوان آنالوگ های مربوطه بسیاری تولید کرد که بسیاری از آنها به سختی از نظر شیمیایی تولید می شوند .

سیتوکروم های ٤٥٠ p در بسیاری از ارگانیسم هایی بروز کرده اند که می توانستند چنین واکنش هایی را انجام دهند Arkasoy بروزیستوکروم ٤٥٠ p را در بعضی گونه های میکروبی القا می نماید . یک مولفه فعال ژنیستین می باشد . بنابراین Arkasoy باید یک منبع کربن و یا حداقل یک مولفه محیطی در نظر گرفته شود .

۳- افزایش مقیاس :

افزایش مقیاس یک تحضیر برای اهداف تغییر شکل زیستی احتمال عدم تولید مجدد تغییر شکل زیستی را با خود دارد . اگر یک مجرای بزرگتر و متفاوت استفاده شود اختلافات جزئی در شرایط فیزیکی شیمیایی به وجود خواهند آمد مانند محدودیت اکسیژن ، مخلوط و غیره و این در نهایت باعث اختلاف در متابولیسم می کردد . در مواردی که چنین چیزی به طور عملی امکان پذیر است بهتر است افزایش مقیاس با افزایش تعداد مجراهای اصلی انجام شود .

٤- تحلیل :

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

یک سیستم تحلیلی به همان روشی کهبرای کار بیوسنتز جهت دار گفتهشد مورد نیاز است یعنی به عنوان یک وسیله مقایسهٔ کشت تغییر شکل زیستی با کشت کنترلی جهت تعیین مؤلفه های موجود در کشت اول که با تغییر شکل زیستی ارتباط دارند . این می تواند به شکل HPLC گرادیانی ، TLC –HPLC – MS و غیره باشد. هدف از چنین سیستم تحلیلی شناسایی این نکته است که تولیدات تغییر شکل زیستی حاصل شده اند و جداسازی از کشت نمی تواند مهم باشد استفاده از MS می تواند اطلاعات بیشتری در مورد ترکیبات ارائه کند . مثلا یون مولکولی M + ١٦ این شک را بر می انگیزد که اکسیژناسیون روی داده است ولی به منظور شناسایی مناسب و آزمایش محصول باید ترکیب را همیشه جدا کرد .

۵- جداسازی محصولات :

همانند حالت تولیدات بیوسنتز جهت دار ،جداسازی نیز با شرایط مورد استفاده برای جداسازی اولیه محصول طبیعی توجیه می شود . بسیاری از واکنش های تغییر شکل زیستی اکسایشی هستند و بنابراین به نظر می رسد نسبت بالایی از محصولات از سوبسترا قطبی تر خواهند بود . بنابراین یک سیستم فاز معکوس که در آن سوبسترا بعد از مدت طولانی شسته می شود مطلوب است اگر چه این امکان وجود دارد که بعضی از

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

محصولات قطبیت کمتری داشته باشند و بعدا از یک سیستم کروماتوگرافی فاز معکوس شسته شوند .

۲-٦ : تغییر شکل زیستی اسکوآلستاتین ها :

با ادامه کار با اسکوآلستاتین ها به عنوان مدل های محصولات طبیعی که می توانند به دنبال جداسازی اولیه خود بیشتر استفاده شوند ، از آنها به عنوان سوبستراهای تغییر شکل زیستی استفاده می شود . هدف از تولید محصولات تغییر شکل زیستی از این طبقه ترکیبات عبارت است از تولید یک تنوع شیمیایی به شکل آنالوگ های محصول طبیعی و انجام تحقیقات SAR و عامل دار کردن اتم های خاص جهت تسهیل بر آورد شیمیای بیشتر.

به منظور شناسایی ارگانیسم هایی که اسکوالستاتین ها را تغییر شکل می دهند این ترکیب با تعدادی از میکروبهایی که از نمونه های خاکی جدا شده بودند تغذیه شد . بعد از آن تحلیل HPLC عصاره های خام آبگوشت ها صورت گرفت تا بتوان کاهش هر یک سوبسترا را که بیانگر استفاده از آن است شناسایی کرد . این مواد جدا شده بعد از آن بیشتر تحلیل شدند و با کشت های کنترلی خود و مقایسه گردیدند و تولیدات شناسایی شدند.

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

کشت های Shake از کشت های دانه ای مایه کوبی شدند و ۱ روز در انکولسیون قرار گرفتند قبل از این که نمک تری پتاسیم اسکوآلاستاتین اضافه شود . به دنبال آن مایه کوبی بیشتر به مدت ۷ روز انجام شد.

تحلیل وجداسازی محصول :

تحلیل HPLC گرادیانی و جداسازی محصول طبق آنچه که برای انالوگ های اسکوآلستاتین گفتهشد انجام گردید . استفاده از LC-MS شناسایی پیک ها را مطابق متابولیست های مربوطه با قطعیت بیشتری نسبت به LC به تنهایی ، عملی ساخت . به علاوه MS نشانه ای است از این که چطور مولکول ها تغییر کرده اند . در کشت هایی که در آنها اسکوالستاتین متابولیزه شده است LC-MS نشان داد که در بیشتر موارد تغییر شکل زیستی مستلزم افزایش اکسیژن و یا دی استیلاسیون بوده است . الگوی تحضیر نشان می دهد که این ها به ترتیب بر زنجیرهای جانبی و الکیل روی داده اند . جداسازی طبق توصیف زیر عنوان ۱-۳-۵ صورت گرفت با این تفاوت که در مراحل نهایی وقتی تفکیک ترکیبات با گروههای هیدروکسیل بر C ۲۳ و C ۲٤ صورت می گیرد HPLC بیشتری مورد نیاز است .

تولیدات حاصل از این آزمایش خاص تغییر شکل زیستی در شکل ۱۳ آمده اند . ٦ آنالوگ تشکیل شد ولی در نظر گرفتن پیچیدگی سوبسترا و تعداد محل های بالقوهٔ

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

واکنش آنرا در مقایسه با مولکولهایی که متابولیست های مختلف تولید می کنند بهتر می سازد . در این جا یکی از مسائل استفاده از تغیر شکل زیستی به عنوان وسیله تغییر تولیدات طبیعی آشکار می شود . عدم قابلیت پیش بینی چنین سیستم هایی . برای یک مولکول مشکل تعدادی واکنش وجود دارد که قابل پیش بینی هستند ولی این چیزی را در مورد ویژگی محل فعال مونواکسژنازهای سیتوکروم p ٤٥٠ نشان می دهد . با این وجود یکی از مزیت های تغییر شکل زیستی در تولداتی آشکار می شود که اهداف بی نهایت مشکل را برای تغییر شیمیایی نشان می دهند .

ترکیب ۷ ، اگرچه یک تولید مستقیم تغییر شکل زیستی نیست می تواندنتیجهٔ مهار سنتزاسکوآلن باشد و باعث تشکیل فاز نزیل بیرون فسفات گروه این ماده با یکی از ارگانیسم های آزمایش به۷ تبدیل شده است دلایل ممکن است بازده پایین متابولیست های حدید برای کشتهای میکروبی غربال شددرمورداسکوآلستاتین عبارتند از کحلالیت ضد یف ترکیب حامل که باعث نسبت پایین سوبسترا در محلول در هر زمانی می گردد ، بهترین ارگانیسم هاانتخاب وآزمایش شده اند دیگر شرایط نامساعد بوده اند مانند زمان تغذیه ،محیط و غیره .این ترکیبات عبارتند از: اسیدهای تریکربوسیلیک .این می تواند آنهارا از تولید سوستراهای نامناسب باز دارد تغذیه ترکیبات در شکل تریمیتل استر

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

خودباعث تغییر شکل زیستی بیشتر گردد شاید ایکوآلستاتین به عنوان ضدقارچی بتواناثر سعی بر ارگانیسمی که با آن انکوباسیون شده است داشته باشد.

۳-٦ – مثالهای دیگر تغییر شکل زیستی :

یک مثال از تغییر شکل زیستی ماده یک محصول طبیعی کوچک در شکل ١٦ آمده است که در آنa سنرکوئیترین لاکتون ،7x هیدروکسی فرولا تولید حاصل از گیاه Sphaeranthus indicus بادو گونه متفاوت Aspergillu در استیلاسیون قرار گرفت و احیاشد تا دو شکل محصول نمایش داده شد به دست آید.

در نهایت دیگر، بروگی ودیگران تغییر شکل زیستی خانواده تئیلوپلاتین آنتی بیوتیک ها را گزارش کرده اندآنهافهمیدند که این پپتیدهای بزرگ وپیچیده که با Actinaplane teichmyceticrs تولید شده اند می توانند با کشت های N.cardiaorientalis NRRL2450، ویا streptomyces candidus NRRL 3218 دیمانوسیلاسیون شوند . آنها همچنین می فهمیدند که تئیکوپلانین دیمانوسیلاسیون شده و دیگر مشتقات دیمانوسیلاسیون شده می توانند با ارگانیسم تولید کننده اصلی به شکل مانوسیلاسیون برگردند . کن و دیگران گزارش کردند که یکی از خانواده سیتوکالاسین محصولات طبیعی که در کشت Actinoplanes sp (٤*٥٠ ml) در غلظت ٠/ ٠٥ mg/ml تغذیه شده بود و برای ٣٠ ساعت دیگر درانکوباسیون قرارگرفته بود باعث جدایی ٦ تولید

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تغییر شکل زیستی گردیدو در نهایت عامل دار شدن در ٤ نقطه جدید بر مولکول حاصل شد.

۱-۳-٦: انتی بیوتیک های آنتراسایکلین :

این آنتی بیوتیک ها و آنالوگ های آنها همانند بسیاری از گروههای مهم تجاری محصولات طبیعی متحمل تغییر شکل های زیستی میکروبی گردیده اند من جمله اکسیداسیون ، احیا، اسیلاسیون و آلکیلاسیون . این انواع اصلی واکنش می توانند با یکی از این خانواده ترکیبات ، دائونومایسین ، تشریح شوند . گروه متیل درکتون زنجیرهٔ جانبی دائونومایسن با یک جهش یافته Srteptomyces Peucetieus اکسیژنه می شود تا آدریامایسین حاصل شود . این مرحله آخر اربیوسنتز آدریامایسین بوده است . این گروه کتون می تواند همچنین با ارگانیسم هایی احیا شود مانند باکتریهای رشته ای و غیر رشته ای و قارچ ها تا این که ۱۳ـ دی هیدرودا ئونومایسین بدست آید . این واکنش همچنین مرحله اول در متابولیسم پستانداری دائونومایسین است . یک نژاد Streptomyces Peuceticus نیز می تواند کارمینومایسین٦ را آلیکلاسیون کند تا ائونومایسین بدست اید .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

بسیاری از این تغییر شکل ها بر آنتراسایکلینون های مشابه صورت می گیرند . بخش های آگلیکون این مولکول ها . مابقی بر گلیکوسیدها روی می دهندمانند N . اسیتلاسیون نیمه دائونوسامین و رائونومایسینول یا Bacillus subtilis var mycoides دائونومایسنیون و ۱۳ ـ دی هیدرو دائونومایسینون نیز با کشت های Streptomeces copruleoxibidusبه اشکال گلیکیوسیلاته تبدیل شدند .

۲-۳-٦: میلبمایسین ها :

میلبمایسین ها گروهی از ماکرولیدهای n عضوی تولید شده با Streptomyces hygroscopecus زیر گونه qureolacrimosys می باشند و این ارگانیسم هااز نظر ساختاری شبیه به آورکلیتن ها می باشند و می توانند فعالیت های آنتی هلمنتیک و حشره کشی داشته باشند . به عنوان بخشی از برنامه تهیه آنالوگ های جدید این خانواده از ترکیبات برای مشتق های بیشتر و به عنوان استاندارد های متابولیت های اصلی حیوانی ، ناکاگاوار و دیگران به آزمایش چندین نژاد آکتینومایسیت ها ، باکتریهای غیر رشته ای و قارچ ها از نظر توانایی تغییر شکل زیستی میلبمایسین A ٤ پرداختند . این ارگانیسم ها از مجموعه های کشت بدست آمدند و از نمونه های خاک جدا شدند و سپس بر یک محیط مقیاس ml ۲۰ در یک فلاسک Erlenmeyer ۱۰۰ml به مدت ۲ تا ۳ روز کشت شدند و به دنبال آن میلبمایسین A٤ اضافه شد تا غلظت نهایی ۰/۵mg/ml

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

بدست آید . نمونه ها در فواصل از کشت گرفته شدند ، با اتیل استات استخراج شدند و برای تبدیل میلبما یسین ٤ A توسط TLC با رنگ آمیزی توسط آمونیم مولیبدات تجزیه شدند . بسیاری از نژادها ی آکتینومایسیت ها و زیگومایسیت ها این ترکیب را تبدیل کردندو بعضی از مؤثرترین مبدل ها جهت انجام تبدیل های مقیاس بزرگ و آزمایش با دیگر انالوگ های میلبمایسین انتخاب شدند .بعضی از تولیدات تبدیل میلبمایسین ٤ A عبارتند از ۳۰ – هیدروکسی میلبمایسین A٤ ، ٢٦ و ۳۰ – دی هیدروکسی میلبمایسین A٤ ،و میلبمایسین ٤ Aو ۳۰- اوئیک اسید ، ۲۹ــ هیدروکسی میلبمایسین A٤ ، ۱۳ B- هیدروکسی میلبمایسین A٤ ، ۱۳ B و ٢٤ – هیدروکسی میلبمایسین A٤ ، ۱۳ B – ۳۰ دی هیدروکسی میلبمایسین A٤ و ۱۳ B و ۲۹ دی هیدروکسی میلبمایسین A٤ . دیگر تغییر شکل های زیستی این ترکیب که گزارش شده اند عبارتند از ۱۳ B – دی هیدروکسیلاسیون و ۱۵ و ١٤ ـ اپوکسیداسیون توسط Streptomyces Violascene بسیاری از این تبدیلات و مابقی آنها بر بسیاری از آنالوگ های نزدیک به هم این ترکیب انجام شدند و در نهایت مشتقات متفاوتی از یک تعداد کمی از ترکیبات آغازین بدست امد .

اگر چه این استراتژیهای Mutadynthesis ، بیوسنتز پیش ماده ای و تغییر شکل زیستی جداگانه توصیف شده اند یکی از مهمترین نکته آنها در مورد روش همپوشی آنها و

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

تکمیل یکدیگر است . جهش یافته ها می توانند آنالوگ های جدید و یا واسطه های بیوسنتزی ارائه کنند که به روش منطقی در دیگر ارگانیسم ها تغذیه می شوند بدین ترتیب تغییر شیمیایی بیشتری حاصل می گردد . آنها خود می توانند دیگر پیش ماده هارا تغذیه کنند .

۷- بیوسنتز ترکیبی :

تغییر ماده ژنتیکی می تواند در تعدادی از سطو ح استفاده شود تا جداسازی یک تولید طبیعی جدید قابل استفاده گردد . تولید جهش یافته ها برای تولید ارگانیسم هایی با مسیرهای بیوسنتزی تغییر یافته و یا اسنادی استفاده می شود و این مسیرها برای آزمایشات تغذیه با آنالوگ های پیش ماده استفاده می شوند . برنامه های جهش و روش های دقیق تر ژنتیکی مولکولی برای توسعه سطوح تولید متابولیت های خاص استفاده می شوند .

اخیرا مهندسی ژنتیک برای تولید متابولیست های ثانویهمستلزم تبعیت و توسعه یک محصول طبیعی اولیه نیست بلکه تولید از محصولات طبیعی غیر معمول مهم است اما هنوز از ابزار متابولیست ثانویه ارگانیسم استفاده می شود .

بیوسنتز پلی کتیدها با سنتز پلی کتید که در روش خط تولید عمل می کند انجام می شود . هر یک یکی از مجموعه های تراکم بلوک های ساختمانی کوچک و منظم را انجام می

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

دهند مانند استیل و مالونیل کوآنزیم A با کاهش های بعدی برای تولید مولکول نهـایی . بسیاری از پلی کتیدهانتیجه ترکیبات مهم ثانویه هستند مانند اریترومایسین ، آورمـاکتین ، آکتینیورهودین و راپامایسین . اکنون می توان ژن هایی را که ایـن انـزیم هـا را بـه چنـد روش کدگزاری می کنند بدست اورد و بدین ترتیب ترکیبـات مختلـف زیـادی از سـنتز بدست آورد و به دامنه جدیدی از پلی کتیدها دست یافت .

تغییر آنزیم های دخیل در سنتز حاصل از پیش ماده های جهانی دیگـر متابولیسـت هـای ثانویه بررسی شده است . سنتزهای سزکوئیترپن خانوادهٔ بزرگی از آنزیم هایی هستند کـه با مکانیزم هایی هستنمد که با مکانیزم مشـترک و کاتـالیز حلقـه ای شـدن فارنسـیل دی فسفات عمل می کنند . هر یک ، یک سزکوئیترپن جداگانه تولید می کننـد . محـل فعـال سنتز که تریکوداین ، پیش ماده ترکوتکن ها در Fusarium sporotricniodies را تولید می کند با جهش زایی مکانی تغییر کرد و در نهایت منجر به تغییر محصـولات حلقـه ای شده گردید همان طور که با جداسازی ، سزکوئیترپن اضافی دیده شده در آینده بـه نظـر می رسد که مهندسی سنتز ترپنوئید و دیگر طبقات آنزیم باعث تولید بسیاری از متابولیت های جدید گردد .

جهت خرید فایل word به سایت www.kandoocn.com مراجعه کنید
یا با شماره های ۰۹۳۶۶۰۲۷۴۱۷ و ۰۹۳۶۶۴۰۶۸۵۷ و ۰۵۱۱-۶۶۴۱۲۶۰ تماس حاصل نمایید

۸ – سنتز ترکیبی :

علم شیمیای ترکیبی ابزاری رابرای تبدیل ترکیبات به ترکیبات جدید معرفی کرده است . گذشته از روش های شیمیایی ،استفاده از محصولات طبیعی به عنوان مونومرو الگوها ذر برنامه های علم شیمیایی ترکیبی یکی از مهمتریی روش ها برای بهینه سازی و افزایش تنوع تولید شده در پیرامون یک محصول طبیعی می باشد . چندین کتابخانه که در مورد تولیدات طبیعی هستند بر پا گردیده اند همانند آنهایی که دارای مجموعه ای از آلکالوئیدهای تغییر یافته Rauwolfia هستند . مزایای توسعه تلاش برای جداسازی محصولات طبیعی جدید به همراه مزیت های ساختاری غیر قابل پیش بینی در شکل کایرال در صورتی افزایش می یابند که بتوانند با توان علم شیمی ترکیبی جهت تولید خانواده بزرگ مشتقات همراه شوند .

www.kandoocn.com