در هر کجا ابتدا صفحه است حرکت کن
راست نجوم

Subject:
Year. Month. Date. ( )

(1)

[redacted] منابع

Principles of fermentation technology
بیوتکنولوژی صنایع غذایی شجاع سادات

Fermentation (appractical approach)

میکروبیولوژی عمومی

Bacteria , Paul singleton , 6edition

[redacted] جلسه اول

Scientefic { (Food science technology) F.S.T.A
Web of sicence

Professional { asm.org
J. bacteria
Applied and Eavionmental Microbiology

science direct . com
wiley
Taylor & Francis
Agric
agricola
cAB
chemical Abs

EPS , LAB عفونت کاری کنز ← روی (آلرژی) gaenzle
ac Enhibitor کاری کنز ← روی (Bary) Gabbetti
(ETH zurich) Locraix
Shah

Subject:
Year. Month. Date. ( )

TERM PAPARE

- تأثیر LAB روی مواد غذایی
- محصولات حاصل از LAB ← cLA
  ← Polylactic acid (Biodegradable)
- سازگاری تاثیرات ما (مثلاً cLA می تواند اثر Enternal داشته باشد) (External
- تولید کشت مایع / تولید سل (رشد) Intensive سنتیک سلولها

ارزش علم اند
Why - what
know - how
ارزش کاربرد و فناوری

قبل از پاستور علت و مکانیسم غذا را می دانیم / مثلا مکانیسم را می دانیم.
پاستور در سال ۱۸۶۰ سوالات مربوط به Why - what جواب داده
و شکاری ژنتیکی نیز در مدل وجود داشته است (مثلا گندم دورگ)

تغییرات ژنتیکی عمیق مطلوب ثبت مثلاً pro آرد افزایش یافته و باعث بهبود قدرت خمیری شود اما بیشتر در معرض آفات قرار می گیرد.

۸۰۰۰ سال پیش
از هزاران سال پیش بیوتکنولوژی وجود داشته است / از ۱۹۷۰ به بعد تغییر چشمگیر کرده.

بیوتکنولوژی می تواند به تولید مواد غذایی با کیفیت بهتر، عطر و طعم بهتر، افزایش طول عمر مواد غذایی و بهبود شرایط تغذیه

منافع بیوتکنولوژی:
① تولید میوه و سبزی با عطر و طعم بهتر
② محصولات کشاورزی با shelf life طولانی تر
③ بهبود سلامتی و شرایط تغذیه ای مثلاً مادی aa ضروری و اسید چرب ضروری باشد
④ تولید گیاهان مقاوم به آفات
⑤ تولید آنزیم از طریق M.O (مخلوص آنزیم روی فعالیت آن اثر دارد در منابع گیاهی و حیوانی همراه آنزیم هرمونهای زیادی دارد و ترمیم اقتصادی ندارد / از منابع M.O مخلوص تر است)
مثلاً تولید انسولین از E.coli
⑥ تولید واکسن و آنتی بیوتیک
⑦ تولید آمینواسید به صورت طبیعی امکان پذیر است نه شیمی

PaPCO

Subject:
Year. Month. Date. ( )

افزایش سلامت در سبد غذایی برای افزایش total solid و افزایش راندمان
Basic Nutrient
Functional food ingredient: ماده غذایی که برخی از بیماری های تغذیه ای یا مداخل منفعت دیگری داشته باشد
زیست فعال ← بهبود سلامتی Promote health
← پیشگیری از بیماری Risk diseases Reduction
۱۹۷۰ - ۱۹۹۰ تولید گوجه تراکتی که طول عمر زیادی داشت. پکتین سیب استراز پکتین را می شکند و باعث له می شود. با اصلاح ژنتیکی بین گالاکتوروناز و پکتین سیب استراز را حذف کردند.
تن تولید

سوپرمارکت معروف: sainsbury's / safe way

۱۰ سال از سنی دیگر این گروهها معرفی نشد به دلیل احتمال تغییر در ژن های دیگر

تولید مواد غذایی GM (Genetically Modified) کار آسانی نیست.

Product ← مواد غذایی که در هر بار تولید ویژگی ثابتی دارد مثل پنیر لیوان
commodity ← مواد غذایی که در هر بار تولید ویژگی آن تغییری کند مثل پنیر تبریز

معادله میکائیلس منتن: رابطه بین سرعت آنزیم و غلظت سوبسترا ↓ K_M ← راندمان آنزیم ↑

لیستریا مونوسیتوژنس باروفیت است و در خاک زندگی می کند برای علت infectios (واگیر داری) باید وارد بدن شود.
به سلول های دیگر منتقل شود.
تا وقتی که روی منابع گیاهی است به دلیل وجود سلوبیوز (واحد سازنده سلولز) رشد آن بالا می شود. ذات روی بیماری تاثیر دارد.

اکثر پاتوژن ها مزوفیل اند (۳۷°c)

لیستریا سالکروتروف است / اما در ۳۷°c قرار نگیرد بدن آن بیان می شود.
سالکرومیلی که می تواند دمای مزوفیل را تحمل کند.

PaPCO

③ فیلترهای چکیده Trickling filter
در تصفیه فاضلاب و هم باتری‌های تولید برق استفاده می‌کنند.

قطعات بزرگ سنگی را کنار هم قرار داده تا بتری فراهم شود فاضلاب از روی آنها عبور کرده و از فاصله سنگ‌ها به پایین چکیده و تصفیه می‌شد.

با این کار سطح را بالا برده و میکروب‌ها روی آن تثبیت می‌شدند (Immobilized)
و سطح عاس میکروب با فاضلاب افزایش می‌یابد

۳- ۱۹۲۰ - ۱۹۰۰ (جنگ جهانی اول ۱۹۱۷)
جنگ‌ها در توسعه علوم نقش دارند و صنایع نظامی در توسعه دیگر علوم نقش دارد.

apertization = پاستوریزاسیون

به دلیل اینکه نیاز به عملیات تجزی زیاد بود تولید صنعتی پیشرفت زیادی کرد.
① از ملاس شیرین و غلات استون و بوتانول تولید شد.
② تولید بوتانول، گلیسرول و اسید به صورت صنعتی درآمد
③ در تصفیه فاضلاب activated sludge یا لجن فعال به روش هوازی استفاده شد. گسترش و انتشار M.O که قادر به تجزیه مواد ارگانیک موجود در فاضلاب است.
④ در تصفیه بی‌هوازی آنک Imhof نقش داشت و در تصفیه بی‌هوازی BOD به شدت کاهش می‌یابد و همچنین گرما تولید می‌کرد در مناطق سرد مفید بود (تجزی هوازی در دهانه پاس نیز کاربرد دارد)
منبع انرژی فاضلاب تولید متان کرده (Biogas.) و گرما تولید می‌کردند.

⑤ وقتی به بستر مواد غذایی اضافه می‌شد کتریا به سمت بی‌هوازی می‌رفت و در نتیجه هجت گیری تجزی به سمت هوازی و تولید Biomass می‌رفت. ← بی‌بردن به کنترل سوبسترا

وقتی سوبسترا ↑ یابد میزان رشد ↑ می‌شود. پس اگر سوبسترا کم‌تر اضافه شود به هوایی زیادی نیاز دارد پس سریعاً شرایط بی‌هوازی ایجاد و به سمت بی‌هوازی و تولید الکل می‌رود.

تاریخچه بیوتکنولوژی صنعتی یا تجزی

قبل از پاستور

دوره اول: ۱۸۶۰ تجزی انجام می‌شد ولی نمی‌دانستند عامل آن M.O ها هستند. نداشتن این مطلب باعث شده که از تولید آن نتوانند استفاده کنند

① تجزی دو نوع انجام می‌شد:
تجزی بی‌هوازی ← تجزی خمیرنان و تولید الکل
تجزی هوازی: در سالی و aspergillus oryzae در سس سویا، تولید سرکه

② می‌دانند که برای جلوگیری از هوا آب گرم استفاده کنند یا انجام هوادهی یا کنار دادن ظرف
تکنیک تجزی کردن

دوره دوم: ۱۹۰۰ - ۱۸۶۰
کم کم به سمت مکانیسم‌ها رفتند

تکنیک هوادهی به طیف وسیع انجام شد.

① تجزی اسید لاکتیک انجام شد. اسید لاکتیک عمدتاً کاملاً اقتصادی است.
تولید
می‌توان الکل‌ها را آنکیری کرده و به عنوان سوخت استفاده کنند اما اقتصادی نیست

② علت هوادهی آن بود که تقسیم گرفتند تجزی نانوایی (ساکارومایسز سرویزیه) را زیاد کنند با هوادهی تجزی به سمت تولید Biomass می‌رود اما با بی‌هوازی بودن به سمت تولید الکل می‌رود و با تغییر شرایط متابولیک سلول را تغییری دهیم

Metabolic engineering میکروب را در جهت متابولیسی به سمتی که می‌خواهیم هدایت می‌کنیم.
(با تغییر شرایط رشد میکروب رشد میکروب را تحت تأثیر قرار می‌دهیم)

در بی‌هوازی بودن تجزی جهت را به سمت تولید الکل می‌رود تا ماده را از دسترس رقبا خارج کند.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

روش شناسایی میکروب : ۱- مورفولوژی
۲- بیوشیمیایی ← Berjey
۳- بررسی ژنتیکی ← ریبوزم 16s

⑫ ۱۹۸۶ : تولید α اینترفرون و واکسن هپاتیت B نوترکیب در سیستم دمایی بدن

⑭ ۱۹۹۰ : اولین Human gene therapy صورت گرفت (درمان کردن توسط ژنتیک)

⑮ ۱۹۹۳ : مالکولر اهونی تولید شد.
genetic
Recombined DNA استون یا اسیدآمینه از M.O تولید شد.
لازم است این از M.O حاوی آن محصول به تنهایی جدید منتقل شود.

- سلامت مواد غذایی که دستکاری ژنتیکی شده :

① میکروب داخل غذا است مثل ماست ← در همچین حالت اجازه داده می‌شود مگر آنکه
گروه سردرم میکروب دستکاری شود

② محصول از میکروب مدیاست ← مبلغ کاری بالاتر است.

سطح دستگاه گوارش $۴۰۰\ m^2$ است پس برای جلوگیری از ورود میکروب به بدن از این سطح
نیاز به میکرو فلور مناسب است

مدرنج بچه‌ای که با Formulated Feed تغذیه شود ← V = PH ← ورود میکروب (اینتروباکتر) به روده
pro زیادی دارد

مدرنج بچه‌ای که با شیر مادر تغذیه می‌شود ← PH اسیدی می‌شود.
Breast Feed

PAPCO

Subject:
Year. Month. Date. ( )

④ تکنیک استفاده از Genetic manipulation (دستکاری ژنتیکی)
با این روش نگاه تکنولوژی به سمت مولکولی رفت (ویژگی بیوتکنولوژی)

با این روش می‌توانند بخشی از DNA را حذف، copy یا منتقل کنند.

میکروبهایی که استفاده می‌شوند :
۱- کم‌مصرف بودند
۲- شناخت کافی از آن داشتند.

⑦ کاهش آلودگی مبارزه بیولوژیک به جای مبارزه شیمیایی
مثلاً در گذشته برای مبارزه با مالاریا از DDT استفاده می‌کردند اما در این دوره اسپور Bacillus Thurengiensis را در مرداب‌ها روی لارو مالاریا پخش می‌کردند اما شکل آن این بود که روی آب می‌ماند پس روی ته رفت Fix کردند.

Bacillus papillia بیماری در مصرف‌کنندگان مثل نوع ایجاد می‌کرد که با Milk Deases مبارزه کردند

کالیفرنیا
Herber Boyer, P. stanly cohen, Poul Berge در ۱۹۷۲ در stanford
روی سلول دستکاری DNA کار کردند

⑧ ۱۹۷۵ اولین آنتی‌بادی تک مولکولی Monoclonel Antibody تولید شد.

⑨ ۱۹۸۰ اجازه دادند سرمودات زنده patent شود

⑩ ۱۹۸۱ اولین کیت شناسایی برای بیوتکنولوژی ساخته شد

⑪ ۱۹۸۴ اولین روش دستکاری ژنتیکی تولید شد برای مصرف انسان مورد تأیید قرار گرفت

⑬ ۱۹۸۵ PCR (Polimerase chain Reaction) قطعات DNA را براساس یک الگو
تکثیر کنیم
مرتب DNA میکروب برای شناسایی مهم است.

PAPCO

Subject:
Year. Month. Date. ( )

Intensive → تولید متمرکز، تولید فشرده

(۴)

۱) تکنولوژی تغیر کرده ولی اما تأثیر زیادی دارد.

۲) تکنولوژی سهل الصنع است قبل از انجام کار سنتی است اما بعد از انجام آسان به نظر می رسد
نیز تکنولوژی مغز دستم است knowladge و نیاز به تجربات بیشتر هم دارد
(Soft ware Intensive) Intensive

۱۱ اطلاعات و دانش بالایی نیاز دارد.

در این دوره متوقف شدند سویه را به تدریج اصلاح کنند اما علت آن را می دانستند (نوعی Metabolic بود) engineering

دوره ۱۹۴۰ - ۱۹۲۰

۱) بسیاری از روش های تجربی بهینه شد (راندمان افزایش یافت و شرایط بهتر شد)

۲) تولید اسید سیتریک به صورت صنعتی انجام شد. (به های آنکل از مرکبات تهیه شود از M.O تولید شد)

۳) Shaken - flask ← فلاسک را در Shaker قرار داده و حرکت دادن باعث هوادهی شد. باید حجم مایع نسبت به سطح کم باشد تا هوادهی انجام بشود.
← بهبود هوادهی

Aerated - agitated Fermanter ← فرمانتور که حرکت کند.

۴) Fibrase استفاده کردند تا هوا را مایل کنند برای هوادهی فرمانتور
Filter

۵) در اواسط دوره (۱۹۳۰) سورلوز را از سوربتول تولید کردند.
سورلوز بلوک ساز ویتامین ث است ویتامین ث ← تا سورلوز ← D ← سوربیت ← گلوکز
اشتراکی
اعیاد الازولی

- تبدیل نشاسته به سوربتول، سوربتول به سورلوز و سورلوز به ویتامین ث ← صرف اقتصادی بیشتر
۵) تولید اسید گلوکونیک

- دوره ۱۹۵۰ - ۱۹۴۰ (جنگ جهانی دوم)

۱) حجم تولید محصولات به تکنولوژی بالا رفت و حجم های افزایش یافت
راندمان تولید محصولات به ویژه الکل افزایش یافت.

PqPCO

۶

(۴)

Subject:
Year. Month. Date. ( )

۲) تولید انجیم برداشول و اسیدی به تولید صنعتی رسید اما بعداً صنعت نفت الکل را تولید کرد
اما تولید الکل عرابی نیاز به تجربه داشت.

۳) تکنیک تجربی غوطه وری submerged Fermento

در ظروف تجربی محیط کشت مایع + مکروب بود که به صورت هوازی بود. توزیع هوا و مواد غذایی کنترل بود و شرایط قابل کنترل بود.

۴) از مایع ها برای تولید آنزیم استفاده کردند (α آمیلاز)

۵) تولید الکل افزایش یافت (حدود ۴ برابر) و تولید الکل از غلات رواج شد چون منابع تولید الکل کافی نبودند. (ملاس، انگور، غربا)

تولید الکل از غلات نیاز به سویه دارد که نشاسته است اما مخمری تولید از نشاسته استفاده کند و برای این از آنزیم ها استفاده کردند و مایع ها این آنزیم را تولید کردند (α آمیلاز، β آمیلاز و گلوکو آمیلاز)

۶) می توان از سویه سنی و سویه رسیده برای تبدیل به الکل استفاده کنند
سویه نشاسته ← دکستروز و گلوکز

۷) کاربرد submerged Fermentation آنتی بیوتیک ها بود و

۸) ویتامین B_{12} (نیاز کوبالامین) و ویتامین ملادین

- بعد از سال ۱۹۵۰:

۱) اسیدهای آمینه را با تجربه حاصل کردند
۲) آنتی بادی
۳) آنزیم
۴) استرول
۵) نوکلئوتید

PqPCO

۷

(۷) فصل سوم

تخمیر یا Fermentation از کلمه Ferver به معنای جوشیدن می آید

ارنلر علمی ۲ تعریف وجود دارد :
۱- بیوشیمیایی
۲- میکروبیولوژی صنعتی

برسلول برای انجام وظیفه و بقا خود و انتقال مواد از خارج - داخل و شکستن آنها نیاز به انرژی دارد .

انتقال مواد به داخل سلول :
۱- passive (غیرفعال، انفعالی)
۲- active transport ← روی رنگ‌های رنگی MO تأثیر دارد

تأمین انرژی ← تنفس (یا فتوسنتز که در آن تنفس نیز داریم)
← تخمیر

تفاوت تنفس و تخمیر در دسترسی به اکسیژن است .

در این دسته از واکنش‌ها Energy converting Metabolism می گیرند و انرژی شیمیایی دارم گیرند و گروه‌های دیگر تبدیل می کنند .

تبدیل شدن به CO_2

مکانیسم انرژی تولید می‌شود ماده اکسید می‌شود و مکانیسم انرژی مصرف می‌شود ماده احیا می‌شود
مثل فتوسنتز (تبدیل CO_2 به قند)

متان CH_4 → متانول CH_3OH → فرمالدهید $HCHO$ → فرمیک اسید $HCOOH$ → CO_2 و آب

اکسیدترین حالت ← احیاترین حالت

NAD → Nicotinamide adenine dinucleotide

تولید انرژی از طریق واکنش‌های اکسید و احیا و جابجایی الکترون است .

ماده‌ای که الکترون از دست دهد ، H یا پروتون گرفته و الکترون گرفته و احیا شده است .
" " بگیرد H یا الکترون از دست و اکسید شده است

NAD ⇌ NADH (احیا / اکسید)

وقتی ماده‌ای اکسید می‌شود در کنار آن یک ماده دیگر احیا می‌شود

نقش احیا کنندگی دارد .

احیا شدن : نیتریت ، آب اکسیژنه ، ظهور عکس

اکسیدشدن : خوردگی ، Bleaching (اوزون در اثر اکسیدشدن الکترون) ، Antiseptic
بری تمیزکننده‌ها

در تخمیر عامل اکسایش دارم . Electron donor (دهنده) ، Electron acceptor

ماده آلی در داخل خودسیتم است و یک مقدار از نظر اکسید و احیا وجود دارد .

در تنفس الکترون اکسیژن است و گیرنده است دارم External oxidizing

در تخمیر ترکیبات Intermediate داخلی عامل اکسید و احیا را انجام می دهد که مهمترین آنها NADH است .

substrate → oxidized product (① اکسیدشدن)
NAD ↓ NADH + H⁺
② احیا شدن
③ اکسیدشدن
reduced products

④ احیا شدن
Glucose → (گلیکولیز) pyruvate → (شرایط بی‌هوازی) استیل کوآنزیم A
ATP ، H_2O ، CO_2
EMP
Embden Mirhof passway

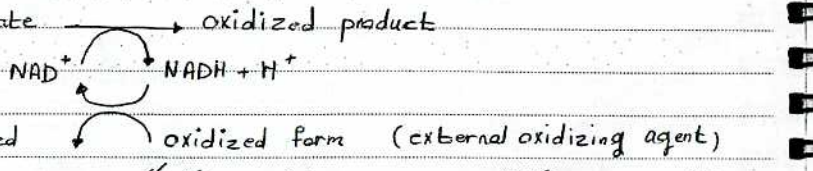
تخمیر
پیروات → لاکتیک اسید
پیروات → آسیتالدهید → الکل
(اکسید / احیا)

(۱)

اهمیت دادن پیروویک اسید به لاکتیک اسید برای تأمین NAD است

Hetero Fermented ← در بعضی M.o مقدار پیروویک اسید ← تولید لاکتیک اسید و سیتریک اسید می کنیم
Homo Fermented ← اسید غالب لاکتیک اسید است

در تنفس اکسیدی NADH به NAD را عامل هایی به نام O_2 انجام می دهد.



تنفس M.o در تست CO_2 (اتیروف ها) بیشتر از گیاهان است.
دلایل تغییر اعتبار آزمون هوازی هم هوازی را M.o ها می دانند.
پروکاریوت ها در شرایط بی هوازی رشد می کردند با فعالیت آنها CO_2 تثبیت شده است و اعتبار تغییر کرد

از همین میکروبیولوژی صنعتی
تخمیر راهی هر فرایندی می گویند که در آن یک M.o یک ماده فعال بیولوژیک (آنزیم، هورمون، پروتئین هایی که ساختارهای سلولی و همانم می سازند مثل پروتئین در عضله گاوی) متابولیت مخصوص تولید کند و ارزش اقتصادی دارد.
در اینجا هوازی یا بی هوازی بودن دیگر مهم نیست.
مثلاً واکنش های آنزیم ها برای تولید HFCS یک نوع تخمیر است یا تصفیه هوازی فاضلاب، تولید سرکه اقسام واکنش های تخمیر

۱- فرایند منجر به تولید توده سلولی یا Biomass می شود
مثل تخمیر نان یا single cell protein

۲- تخمیرهایی که در آنها آنزیم تولید می شود.

۳- تخمیرهایی که متابولیت ها را تولید می کند
مثل تولید اسید آمینه

آنزیم ها مزه متابولیت میکروبها هستند اما هرن ارزش اقتصادی دارند در دستجه ها می آیند

۴- Bio transformation
تبدیل سوبسترا به متابولیت

تخمیر (غذایی از منشاء LAB)

یکی از مهمترین محصولات تخمیری نانوایی یا sourdough است که خرد و توده سلولی هستند امروزه تخمیر راع تراز sourdough است. این تخمیر باعث بهتر شدن کیفیت می شود اسیدآمینه ها تغییر می یابند و عطر و طعم متفاوتی می کند.
خوش خوراک ترین ماده پروتئینی است که استفاده می شود.

single cell protein ← تخمیر انبوهی از میکروبها را به عنوان منبع PPP استفاده می کنند
همین پروتئین منبع گرانی است.

در پروکاریوت ها نیست RNA و DNA کل سلول بالا است و میزان N و در نتیجه اوره را بالا می برد در صورت مصرف طولانی ایجاد بیماری می کند.
این ماده طوری است که طعم خوبی داشته باشد طعم بدی دارد.

در هر زمان دام می توان singl cell protein را استفاده کرد.
Vogle Bush ← تجربات متابولیت را می فروشند

Rendering plant ← ضایعات کشتارگاه را در اتوکلاو دقیقه (گوشت شکار باید ۲۱ روز در سردخانه بماند)

سویه متابولیکوس از گازوئیل تولید single cell protein می کند

از الیر رهت علیق (پیتان) می توان ۱۸ kg ماده خشک پروتئینی تولید کرد.
این مواد feed grade است و برای دام استفاده می شوند feed grade آن.

در ماست نیز عمدتاً میکروب وجود دارد که بخشی از ویتامین B را تولید می کنند.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

* متابولیت ها

مواد مولکولی کوچک مثل پپتیدها و آمینواسیدها تا بزرگ مولکول اند

آنانول، پیرتکریسین، استرون و ویتانول، گلوتاتیک اسید، لرزین، نیکوتین، لی ساکارید، و پپتین

primary Metabolit : میکروب برای رشد به آنها نیاز دارد مثل اسید آمینه

کربوهیدرات، چربی ها و پپتیدها

چون برای رشد به آنها نیاز دارد در فاز رشد لگاریتمی تولید می شود

Tropophase

Secondry Metabolit

هنوز علوم نیست برای موجود زنده ای که آنها را تولید می کند چه فایده ای دارد مثل

استروئیدها، کوکسین در تاج ها، اکراتوکسین در آسپرژیلوس کراسیوس

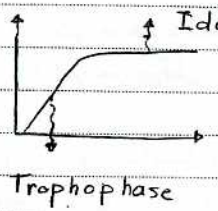
آنتی بیوتیک ها نی سیلین، بالتریسین، ریفلاوین، بروز پیرسین، اکتینین، توتریسین

فعالیت رشد M.o دارند. این مواد نیست (secondary) بلی ان

در گیاهان آنتوسیانین، ماده موثره گیاهان دارویی (سترین بان گلایسیریک اسید تولید می شود)

این مواد برای دور شدن رقبا تولید می شود. مثلاً بالتریسین (LAB) روی گرم مثبت ها اثر می گذارد و یا آنتی بیوتیک چای قارچی روی باکتری ها اثر می گذارد.

معمولاً در فاز stationary تولید می شود.



نام گذاری بر اساس نوع متابولیت:

چون نظر از فاز تولید متابولیت ثانویه دقیق انتظار می رود که سرعت رشد میکروب پایین باشد

و لو اینکه در فاز رشد لگاریتمی باشیم.

در محیط کشت continues می توان سرعت رشد را تنظیم و قبل از رسیدن به stabiry متابولیت ثانویه تولید کرد.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

(9)

* آنزیم ها معمولاً از منابع گیاهی یا حیوانی تأمین می گردند و مشکلات زیادی دارد:

① در بافت گیاهی یا حیوانی حرارت آنزیم زیاد است و آنزیم حالص نیست

② از نظر اقتصادی به صرفه نیست ← در مانیکه را زمان آنزیم بالاست گرسالها هنوز رشد نکرده و کشتن آنها به صرفه نیست ضمن آنکه در مقادیر بالا نمی توانند تولید کنند.

علل استفاده از M.O :

۱- مقادیر قابل توجه می توان تولید کرد.

۲- سریتر برای تولید این آنزیم ها گران نیست مثل صنایع کشاورزی

۳- غلبی از میکروها توانایی تولید productivity قابل توجهی دارند.

۴- M.O غلبی خوب قابل کنترل اند (Metabolic engineering)

میکروها بدون دلیل خوبی برای نیاز ندارند تولید نمی کنند چون در شرایط سخت زندگی می کنند و مثلاً برای تولید یک ماده باید سریتر برای تولید آن را از آن هم دور کرد.

۵- خلوص آنزیم میکروبی بیشتر است

۶- جدا کردن آنزیم در صورت External یا Internal بسیار راحت تر از internal است.

علت تولید مواد = External چون M.o هر مواد را نمی تواند وارد سلول کند

مثلاً اگر قند ساده در اختیار نداشت باید نشاسته را شکند بعد وارد سلول کند

(هر مواد از دیواره سلولی نمی تواند عبور کنند)

اصل پیروزیلی : If you don't use it, you lose it

مثل لاکتوز intolerance

نیاز و سرنیاز ← در سویه ها

این آنزیم ها چون pro هستند ایجاد حساسیت می کنند.

مثلاً eLA اکثراً external است یعنی از آنها داخل سلول باقی می ماند

تخمیر روشی برای شکستن و هم پوشش مواد یا ردش شدن Degrade
anabolism catabolism

مواد آلی که net oxidation عبارت است چون اکسیژن را همیاء در حالت موازنه است

در جلسات تخمیر ۱ Degradiation :

۱- تخریب کربن (نشونتر و تخمیر)

ب- تخمیرهای مربوط به غذا

در صنایع غذایی تخمیر سهم بازار ۵۴ میلیارد دلار است که ۲۴ بیلیون دلار مربوط به ماست است.
۷۴ بیلیون دلار مربوط به پنیر است.

① استفاده از تخمیر برای تغییر کیفیت یا فراص Fuctional
Flavor ↑ طعم و بو
texture ↑ دیرگی بافتی
فراص زیست فعالی یا مواد مؤثر
Bioactive compounds

② تولید Food ingrediant ← مثل تولید اسید ۶ اسید آمینه یا بسیار Bioactive

تخمیر در صنعت غذا The most innovative است و دارای نوآوری است.

نوآوری یعنی کاربرد جدید

تخمیرهای عروف: تخمیر نان، سرکه، پوشیدنی های الکلی، تخمیر آبزی مثل ساس سویا که مواد با آنزیم یا عرارت شکسته می شود، تخمیر پوشش ها (ترشی ها) و

هنابان نفوذ باعث تخمیر آماهوز شده تا هضم آن تخمیر شود.

۱- تخمیر با استفاده از میوه ها و علاف سه Temp ، Ontjon

۲- تخمیرهای سس های لبنی و آسیاتی سه سس سویا

۳- تخمیر لاکتیکی (سبزیجات تخمیری: sour krout و زنجبیل و هاردیشور، kimchi
شیرخیری: کفیر، کومیس، ماست، dahi و tairu، تخمیرلات: safu/tufā

نان و کاساوا: باغ تخمیری: Balao Balao (سوسیس تخمیری)

۴- تخمیر الکلی ۵- تخمیر سرکه ۶- تخمیر قلیایی Dawa Dawa ۷- تخمیر نان

به هر استریوپپتیس ها در بقیه تعداد مرگ ≠ تعداد تولد
یعنی در اثر تکثیر سلول اولیه دیگر وجود ندارد

در مرحله stationary دیگر تکثیر وجود ندارد و وارد فاز rest می شود و فقط مواد را حفظ می کند و تأمین می کند

متابولیت های ثانویه از لحاظ اقتصادی ارزشمند اند و تولید آنها را تولید می کند مگر آنکه شرایط را برای تولید آنها فراهم کنیم

در علم Metabolomix بیشتر متابولیت های با اندازه کوچک (زیر ۵۰۰ دالتون) هستیم مثل کربوهیدرات، چربی، آمینواسید

ac ← کنترل مثبت فرون
ihibiter

در ۴-۵°c پتیدهای کوچک از کازئین شیر تولید می شود.

ترکیبات دارویی که فراص فارماکولوژی دارد، لاکتوتریک اسید ← متابولیت ثانویه

Big trasformation ✗
دگرگون سازی بیولوژیکی

ماده ای به ماده دیگر از خانواده اش تبدیل شود (دکربوکسیلاسیون، آمینیشن) و فقط گروه عاملی تغییر می کند

در روش شیمیایی نیاز است که از دما و فشار بالا و کاتالیزورهایی استفاده کنیم اما در Bio trans formation نیازی به آنها نیست

۴- مدیریت پسماندها و تصفیه

با اندازه‌گیری کل و با زدن M_o می‌توانیم BOD را بدست آوریم پس باید تصفیه شود

Isolation, Identification & characterization جداسازی، شناسایی و تثبیت

۷ منابع تأمین میکروبها:

۱- هوا ۲- محیط و بدن انسان

(۱) Isolation یا جداسازی:

محیط‌هایی را برای جداسازی استفاده می‌کنیم که برای همین کار می‌خواهیم استفاده کنیم شامل باشد.

هدف جداسازی یک تعداد کلونی در محیط کشت‌های انتخابی یا غربالی است.

Q_{10} : سرعت واکنش را برای ۱۰ درجه مقدار تغییر می‌کند

Z_{value} : دما را چقدر تغییر دهیم تا سرعت واکنش ۱۰ برابر شود

برای جداسازی میکروبهایی که Thermostable Enz هستند باید از محیط‌هایی مانند چشمه آب گرم استفاده کنیم (hot spring)

(۲) Identification :

۱- بررسی خصوصیات مورفولوژی و بیوشیمیایی

اسپوردار بودن، گرم مثبت و منفی

۲- خصوصیات بیوشیمیایی به عمدتاً تخمیرکننده‌ها یا کیت‌ها APF

معیار کتاب Berjeys است.

۳- خصوصیات ژنتیکی یا میکروبی

در سطح سوم جداسازی می‌کنند.

توالی DNA را با PCR شناسایی می‌کنند

درسطح بین گونه‌ای

Family
Genus
specis
strain

Blast یعنی ادعا کردن در مورد یکسان بودن M.o

قبل از Identification، کلونی‌ها را Isolate یا جدا کشت می‌کنند

ASM.org → Publication

Environ. Microbial
Aug

تخمرها یا بر سیل Mix culture است Single culture

اطلاعات ما در مورد تک تک میکروبها در تخمر هنوز است اما در مورد ارتباط بین آنها در Mix culture اطلاعات کافی نداریم

③ Artizanal Food غذاهای سنتی - نوعی تخمری

مثل پنیر لیتوان

سرکه Balsamic = سرکه بالزامیک که به اندازه تقال انگور که ۱۲ سال است و در بشکه‌های چوبی ریخته شده

مراحل تخمر اساس صنعت تخمر: جهت دادن به رشد M.o به منظور ایجاد و تولید ماده مورد نظر

۱- مراحل مقدماتی Up stream process

جداسازی، شناسایی و شناخت تواعدی میکروب‌ها

۲- مراحل اصلی Main stream process

① طراحی محیط کشت، استریل کردن تجهیزات مثل دستگاه فرمانتور و محیط کشت

مراحل جداسازی و شناسایی در موفقیت فرایند نقش اصلی دارد.

میکروبهایی که ما آنها سروکار داریم پرنیاز و Fastidious و محیط کشت باید غنی باشد

② توزیع یابی تلقیح

پرکنیز باعث ایجاد تنوع و ایجاد تنوع می‌شود

③ کنترل مراحل رشد و تولید در شرایط بهینه

شرایط pH و یا نوع محیط کشت که ما باید استفاده کنیم یا نیم جامد

گاهی شرایط بهینه شرایط تکثیر نیست.

④ Down stream process جداسازی و خالص‌سازی محصول purification Bioseparation

* استفاده از غشاهای نانو برای آبگیری کامل

* جداسازی آنزیم با تک، میلیز UF

۴- راندمان productivity بالایی داشته باشد.

$$Y_p = \frac{dp\ (product)}{ds\ (substrat)}$$

$$Y_x = \frac{dx\ (biomass)}{ds\ (substrate)}$$

۵- تغییر ژنتیک بدهد (Genetic stability)
بعد از پاساژ دادن ریزنگار M.o تغییر نکند.
این برای مصرف کننده خوب است و برای تولیدکننده هم خوب است.

۶- هداری محصول آسان باشد.
محصول خارج سلولی بهتر از داخل سلولی هدا می‌شود.

نگهداری M.o
- کمترین تغیرات را داشته باشد.
- ویژگی مورد را حفظ کند.
- به سرعت توانایی آن را فعال کرد.

① بهترین روش لیوفیلیزه کردن است اول باید منجمد کرده و بعد در Freeze_Dryer خشک کنیم.

باید از موادی استفاده کنیم که از هسته اطرافی ایجاد ملکولی کند مثل گلیسرین آب نیز (پروتئین سرم) و سم cryoprotectent

منجمد کردن باید cryogenic باشد، از ازت مایع استفاده شود.

Freeze
Anti protein ← مقابل با صدمات احتمالی ایجاد روی سلول

در این روش باید دقت شود تا خالص داشته باشد

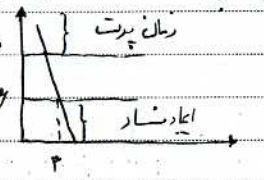
② ایجاد برای نگهداری کوتاه مدت (۲ تا ۳ سال) در ۸۰°C- یا ۲۰°C- در فریزر
نگهداری شوند و باید CO_2 خارج شود تا اگر برق رفت تا
مدتی با CO_2 سرد نگه دارد.

③ نگهداری روی Agar slant پلیت
هر لوله اسیدورف (لوله پلاستیکی 1ml) به شکل مورب قیف کنت را
به قطر تمام سطح زیاد باشد و هم عمق و رطوبت خود را از دست ندهد.
(۱ تا ۲ هفته)
در این روش مزیت شده پنت و در یخچال ۴ تا ۵ درجه نگهداری می‌شود.

④ spray - drier

۳ : charcterizabion

رفتار M.o را مورد بررسی قرار می‌دهیم در شرایط pH بهینه و در شکل زیر



۴/۶ < pH < ۵

هر زمان بین ۵ و ۴/۶ کم است بافت شکل نمی‌شود و pro بدون آب جذب کردن دانه‌دار شده است اما سرعت زمان تولید بافت کم است اما سریعاً غیر قابل مصرف می‌شود.

مراحل هداری، شناسایی و شناخت، دلیل هرنه باید همزمان انجام گیرد مثلاً اگر در هداری همان ریزنگار مورد نظر را نداشت نباید ادامه داد.

در بسیاری از موارد اول ریزنگار بررسی می‌شود.
مثلاً برای تولید و هداری میکروبی که آنزیم لیپاز سالکارید تولید کند در بافت گذار و دنبال آن هستیم. بعد از هداری میکروب ریزنگار آن را بررسی کرده و بعد تست بیوشیمیایی و بیوشیمیایی انجام می‌دهیم.

لاکتوباسیلوس توانایی پروبیوتیک بالایی دارد پس بیشتر Bioactive تولید کرده
هرتکلوس
که از دیواره سلولی راحتی جذب می‌شوند.

مشخصات میکروب مورد استفاده:

۱- نیاز تغذیه ای گستری داشته باشد مثلاً ویتامین گران قیمت است.

۲- دمای ایستم رشد باید بالا باشد چون واکنش تخمیر همراه با حرارت است و خنک کردن هزینه دارد.

دمای ایستم مخمر ۳۰°C است. و بهتر است ایستم دمه حرارت آن ۴۰°C باشد.

۳- میکروب روی تجهیزات خوردگی ایجاد نکند. مثلاً خوردگی در صنعت قند کم M.o نقدرا صرف و pH را پایین می‌آورد.

(۱۳)

Subject:
Year. Month. Date. ( )

بانک های میکروبی :

America Type culture collection ← ATcc

بانک میکروبی است

National Type culture ← NTcc انگلستان

Persian Type culture collection ← PTcc

متی میکروب این بانک ها را تشریح Identification انجام داد.

culture Dependent شامل مورفولوژی و بیوشیمیایی است

culture Indipendent شامل مشخصات ژنتیکی است

Mainstream

Subject:
Year. ۱۹ Month. ۸ Date. ۱ ( )

فصل پنجم : محیط کشت = culture media

طراحی محیط کشت Microbial culture = محیط کشت میکروب

یک محیط کشت خوب باید نیازهای M.O را تأمین کند مثل مواد مورد نیاز برای ساختمان M.O و محصول و انجام انرژی

۱- کربوهیدرات ۲- نیتروژن ۳- آب ۴- املاح معدنی

۵- ویتامین ۶- اکسیژن برای تخمیر هوازی

یک لیتر محیط کشت ۱۰۰۰۰ تومان است .

انتخاب محیط کشت از نظر اقتصادی بودن اهمیت دارد

یکی از روش های دستکاری ژنتیکی آن است که بتوان از منابع ارزان قیمت استفاده کند مثل ایجاد آنزیم سلولاز در M.O

ویژگی اجزاء محیط کشت :

۱- عدم کاهش بازده تولید محصول یا توده سلولی

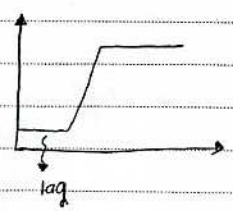
$$Y_{P/S} = \frac{Product}{substrate}$$

$$Y_{M/S} = \frac{Biomass}{substrate}$$

۲- عدم تاثیر سرعت تولید محصول

تا سریعتر فرآیند انجام شود و زمان تخمیر کوتاه شود .

هرچه فاز lag کوتاه تر شود زمان تخمیر کوتاه تر می شود .



هرچه سوبسترا ساده تر باشد سرعت رشد بیشتر از سوبسترای پیچیده (سلولز و نشاسته) است

۳- عدم تمایل مواد نامطلوب در محیط کشت به وجود آید .

Subject:
Year. Month. Date. ( )

Product + Biomass ← سایر نیازها + منبع ازت + منبع کربن + انرژی

$+ H_2O + CO_2 + Q$

نیازهای تغذیه‌ای به دو دسته تقسیم می‌شوند:

1- Macro Nutrient: مثل کربن، نیتروژن، گوگرد، ملزم، سدیم و پتاسیم که ۹۸٪ وزن خشک M.O را تشکیل می‌دهد

2- Micro Nutrient: در مقادیر کم مصرف می‌شود و شان می‌دهد تأثیر زیادی در مقدار کم دارد. و معمولاً گران تولید

به مقدار زیاد به این مواد نیاز است. که در ساختار مورد نیاز است

کربن درصد تمام شده محصول زیاد است. ۶۰٪

بعضی از مواد را میکروب می‌تواند تهیه کند این مقدار را باید از برون دریافت کرد.
مثلاً در انسان مثل سیانوکوبالامین یا B_{12} (در گوشت قرمز)، اسید آمینه ضروری
معمولاً در غلظت کم مورد نیاز اند.

در مورد کورینه باکتریوم گلوتامیکوم که گلوتامیک اسید تولید می‌کند، محرک رشد، پرتین B8 نیاز است، اگر کمتر از مقدار لازم استفاده شود رشد می‌کند و اگر زیاد مصرف شود گلوتامیک اسید را داخل سلولی تولید می‌کند.

این ویتامین برروی عشا تأثیر می‌گذارد و عشا نسبت به گلوتامیک اسید غیر قابل نفوذ می‌شود

Subject:
Year. Month. Date. ( )

۴- ارزان بودن، ثبات کیفیت، و در دسترس بودن آن اهمیت دارد

مثلاً ملاس را همیشه در طول سال داریم و یا ضایعات هزینه

مثلاً whey ثبات کیفیت دارد و گاهی سرین است و گاهی پرتین است و لاکتوز نوشت M.O، اسید تبدیل شده است.

۵- مواد مثل را برای تغییر مراحل تولید به وجود آورد مثل هورمونی یا هیدرولیز و خالص‌سازی محصول
اگر محیط کشت ویسکوز باشد هموژنیزه شکل هوادهی

لاکتوز و ستاتول، آنانول، اسیدهرب

معمولاً علائم، ضایعات معدنی، نیتروژن، ثبات، سولفور، سلولز، منبع C

نمک‌های آمونیوم، اوره، نیترات، بودر سویا، ضایعات کشاورزی و صنایع غذ
سریع دردن ← منبع ازت (N)

کربن بیشتر برای تأمین انرژی استفاده می‌شود از نیتروژن بیشتر برای تولید محصول استفاده می‌شود.

میزان مصرف C زیاد است هزینه هم در مقدار و هم در تأمین انرژی مصرف می‌شود

scale up = افزایش مقیاس که در بحث دیزاین و هوادهی اهمیت هزینه‌ای می‌دهد.
و میزان محیط کشت هم است.
مثلاً نشاسته را در هم آزمایشگاهی می‌توان در محیط کشت استفاده کرد اما در هم زیاد در شیکر (شیکر) به دلیل ایجاد دیسکوزیته نیاز به موتور با توان بیشتر است.

محیط کشت علاوه بر تأمین نیازهای تغذیه‌ای، بر یکدیگر و بزرگی کل مخمر را تغییر می‌دهد
مثلاً املاح فسفر در pH تأثیر گذاشته و حالت تاوری را افزایش می‌دهد
بعضی مواد می‌توانند با هم زدن ایجاد کف کنند.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

chemoorganotroph ← organic ← chemotroph ← نیاز به انرژی
chemolitotroph ← Lito (معدنی)

منبع کربن و انرژی

کربن منبع ساختاری است (ریبوزوم ، DNA و ...) و هم تأمین انرژی است

M.O را براساس منبع کربن تقسیم بندی می کنیم : فتوسنتز کننده‌گان = فتولیتوتروف = Photoautotroph

۱- Autotrophic ← از CO_2 به طور مستقیم استفاده می کنند مثلاً M.O اولیه CO_2 را تثبیت کرده و اکسیژن را تغییر دادند. که در این زمینه فعال‌تر از گیاهان هستند. باکتری‌های فتوسنتز کننده

۲- Heterotrophic ← می توانند از منابع معدنی و آلی کربنی استفاده کنند

۳- Mixotroph ← اگر منابع معدنی و آلی کربنی در اختیار داشته باشد از CO_2 استفاده می کند.

CO_2 چون اکسیده‌ترین مالت است برای استفاده نیاز به منبع دیگری دارد.

فعل و انفعالات شیمیایی سلولی

کمولیتوتروف ← chemo ← منبع انرژی اکسایش مواد آلی است (مثل H و N)

۵ متانوژن تک باکتریها ، هیدروژن باکتریها ، نیتریتای باکتریها

و دهنده e معدنی

لیست ارث در گیاه

میکروب ناصلاب صنعتی

کمو ارگانوتروف ها ← مثل قارچ‌ها (عالباً) و خیلی از باکتریها یک ماده آلی دهنده الکترون است و انرژی از فعل و انفعالات شیمیایی تأمین می شود

فتو اتو میکروبهای بدن ما ، انسان ، میکروب ناصلاب شهری

فتو ارگانوتروف ← قارچ‌ها نور منبع انرژی و دهنده e ماده آلی

فتولیتوتروف ← باکتری‌های تنفس‌کننده نور سولفوری و ملیک‌ها

P&PCO

۲۶

(۱۸)

Subject:
Year. Month. Date. ( )

اسید چرب ، هیدروکربن ، الکل‌ها ، چربی حیوانی می توانند به عنوان کربوهیدرات استفاده کنند

میکروب نفت‌خوار که Bio remediation است و آلودگی نفتی خاک را از بین می برد

Phyto remediation ← از گیاهان برای برطرف کردن آلودگی نفتی استفاده می کنند.

عمده‌ترین دسته منابع کربن کربوهیدرات‌ها هستند مثل قند گلوکز ، ساکارز و لاکتوز ساده‌ترین منبع‌ها ساکارز و گلوکز است.

وقتی قند اضافه داریم باید در استریل کردن مراقبت شود و بهتر است جدا استریل شوند چون حاوی ترکیبات N می توانند میلارد ایجاد کنند که میلارد مانع از رشد M.O می شود همچنین اسید آمینه ضروری نیز تخریب می شوند مثل لیزین

① رایج‌ترین فرم قندی ملاس ضایعات نیشکر است که قند اصلی آن ساکارز است وقتی قندگیری از ملاس (استفن) بدانیم باشیم میزان درصد قند بالا می رود. علاوه بر این ملزات سنگین ، آرسنیک دارد به دلیل آهک مشکل ملاس سه چهارم فصل بیشتر

② لاکتوز نیز استفاده می شود که منبع آن آب پنیر است که شبات بدارد و در حمل و نقل و نگهداری اگر زود خنک نشده باشد ترش می شود. پس استفاده از لبنیات آن رایج است که هزینه دارد. میلارد راحت‌تر از ملاس دارد

اگر پودر شود هم آن نیز بالاست و حمل و نقل آن مشکل است.

خشک کردن آب پنیر به دلیل pH آن که بالاست و گرفتگی مغافذ مشکل است

بعضی ساکاریدها باکتری‌ها و مولکول‌هایی هستند که فعالیت پایین دارند و کلرینته پایین ایجاد می کنند و باید در آنجا تغییر داد

④ نشاسته ایران است و مزارعی زیادی دارد ۱.۱ باید آن را شکست چون M.O می توانند آن را استفاده کنند.

P&PCO

۲۷

Subject:
Year. Month. Date. ( )

انتخاب منبع کربن :

۱) محصول اصلی کربن در انتخاب منبع کربن اهمیت دارد . پس اگر محصول گران قیمت باشد با ارزان قیمت در نوع کربن انتخابی اثر دارد .

گاهی ماده اولیه در قیمت نهایی محصول اثر زیادی دارد اما گاهی اوقات دارایی در قیمت محصول تأثیر دارد مثل تولید تاکتور ۸ تنی

۲) تشویق و یا عدم تشویق قانونی

مثلاً به دلیل ایجاد آلودگی تشویق به استفاده از ملاس در آب نیز می کنند .

۳) ژلاتینه شدن نشاسته در غلظت بالای ۲٪ در طی استریلیزاسیون

۴) سرعت متابولیزه شدن منبع کربن

مثلاً هرچه ساده تر باشد سریعتر متابولیزه می شود و این در تولید متابولیت اولیه و ثانویه اهمیت دارد .

هرچه سرعت متابولیزه شدن کمتر شود سرعت رشد کمتر و متابولیت ثانویه تولید می شود .

۱۱۷۷۸۱۰۶۹

PAPCO

29

Subject:
Year. Month. Date. ( )

(۱۶)

کمبود هوادهی و شستشو در استریل کردن ایجاد مشکل می کند . معمولاً با غلظت ۲٪ ایجاد مشکل نمی کند .

④ سلولز منبع عمده برای تولید Bio ethanol است .

MTBE عدد اکتان را بالا می برد با ایجاد مشکل می کند . اتانول نیز عدد اکتان سوخت را بالا می برد .

شکستن سلولز کار مشکلی است چون سلولاز ندارد و همچنین ساختمان سلولز کریستال است و آمیزه نزدیک همچنین با لیگنین ترکیب شده که باید با treatment آن را شکست .

⑤ ژلاتین و اسید چرب به عنوان منبع کربن استفاده می شود . میزان انرژی ۲٫۵ برابر کربوهیدراتها انرژی تولید می کند .

همچنین خاصیت ضدکف دارد . با مایع های رشته ای انعطاف پذیری بیشتر در مورد صدمات مکانیکی می دهد .

⑥ هیدروکربن ها

با ۱kg نشاسته ۱٫۸ kg وزن خشک میکروب تولید می شود متابولیت کربن تولید می شود که برای غذای دام استفاده می شود و میزان pro بالایی دارد .

⑦ الکل ها (اتانول و متانول)

اتانول قیمت پایینی دارد و هم با کیفیت بالا دسترسی داریم . اتانول کف می کند اما کف آن با ثبات نیست پس تزریق تحت هوا کمک می کند .

کف هوایی است که در لایه ای از مواد غذایی مثل pro با اتانول محبوس شده است اگر pro باشد کف ثبات بالایی دارد . معمولاً اگر دانتوره شده باشد بسیار با ثبات است اما در مورد اتانول با ثبات نیست .

اتانول حلالیت مولی در آب دارد .

متانول سمیت بیشتری نسبت به اتانول دارد ضرارتر است پس هم ظرف کم می شود .

PAPCO

28

Subject:
Year. ۸۹ Month. ۸ Date. ۸ ( )

repression = سرکوب catabolic = کاتابولیت

فصل ششم

۱۱ متابولیسم کربن و تنوع ژنتیک ، catabolic repression = مهار کاتابولیتی

استفاده از ملیت وسیعی از منابع کربن برای M.O یک نقطه قوت است پس یعنی M.O ملیت وسیعی از آنزیم ها و هرهم متابولیکی دارد .

هر متابولیکی که اتفاق می افتد مربوط به هورمون است

میکروبهایی که از منابع کربن متنوع استفاده می کنند تنوع ژنتیک دارند.

M.O که در شرایط سخت زندگی می کنند مثل M.O در معادن (Bioleaching) تنوع ژنتیکی بیشتری دارد نسبت به M.O که در شرایط بهتر زندگی می کند .

LAB بیشتر در منابع غذایی تخمیری هستند پس به لحاظ تنوع ژنتیکی محدود هستند

Lb. sanfraciscensis در عمل پرش نقش دارد . ژنوم آن بسیار کوچک است چون در شرایط سختی است و جزء M.O پرنیاز است .

heirarchy یک سلسله مراتب وجود دارد و یعنی M.O در محیط اول به دنبال سرنخ های ساده تر می رود و بعد به دنبال سرنخ های پیچیده تر می رود .

catabolic repression

وقتی یک منبع ساده به مقدار لازم در اختیار M.O قرار دهم بسیاری از هورمون های متابولیکی متوقف می شود . ساده ترین این ماده گلوکز است پس M.O به دنبال استفاده از منابع کربنی پیچیده تر می رود . Glucose effect

پس به دنبال آن متابولیت های M.O تولید می شود مثل آنزیم ها

وقتی منبع کربن زیاد باشد هورمون کاتابولیکی ایجاد شده و متابولیت های تانوین تولید می شود

چون سرعت رشد بالا است .

متابولیسم M.O مولکولها به عنوان یک signature است و در بیان ژن ها تاثیر دارد که منبع کربن در این بیان ارجحیت است .

هورمون کاتابولیکی از طریق ازدیاد AMP هورمون را نشان می دهد .

PqPCO

۳۰

Subject:
Year. Month. Date. ( )

منابع راه ارث

اکثر M.O موجود در صنعت مادرند مواد آلی و معدنی را مصرف کنند

① نیتروژن معدنی : گاز آمونیاک ، نمک آمونیوم (سولفات آمونیوم ...) ، نیترات

۱ مصرف سولفات آمونیوم توسط M.O پس سولفات در محیط وارد شده و pH اسیدی می شود $(NH_4)_2SO_4$

$(NH_4)NaP$

در نیترات آمونیوم اول آمونیوم را مصرف کرده و pH اسیدی می شود بعد نیترات را مصرف کرده و pH قلیایی می شود

در نیترات سدیم اول نیترات را مصرف کرده و pH قلیایی می شود $NaNO_3$

منبع ارت : فرم اوره ، پپتید ، اسیدآمینه و پپتید نیز می باشد اما اوره مزیت خاصی است و می توان اثر کلاکرد و هزینه را بالا می برد . پس باید با میلتر استریل شود

② آلی

منبع ارت : ① کنجاله بادام زمینی ، ② کنجاله بادام زمینی ، ③ عصاره مخمر ، ④ بقایای حاصل از تقطیر الکل (حاوی بیکر سلول مرده است) ، ⑤ دنت ضایعاتی شده ⑥ ژلاتین ⑦ بقایای کشتارگاه ها corn steep liquor

BoD کشتارگاه ۳۰,۰۰۰ PPM است .

متابولیسم ← صرف تولید انرژی می شود اما متابولیسم نیتروژن صرف تولید متابولیت می شود .

اصلاح در سازگاری و فعالیت آنزیم و کوآنزیم می تواند نقش داشته باشد

اصلاح روی رشد M.O اثر دارد ① روی متابولیت اولیه اثر دارد .

② گاهی روی متابولیت ثانویه نیز اثر دارد . ترکیبات منفات آلی باید از یک جایی کربن تا متابولیت ثانویه تولید شود یعنی منفات در تروفوفاز باید مصرف شود تا تولید متابولیت ثانویه داشته باشد .

PqPCO

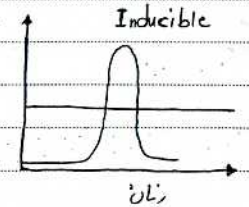
۳۱

Subject:
Year. Month. Date. ( )

در بیان ژن :

۱- ژن‌های سازه‌ای constitutive که با شرایط محیطی بیان ژن آنها را کنترل کرده. و برای حیات M.o ضروری اند

۲- ژن‌های Inducible که تحت کنترل اند



در این موارد عامل القاء کننده بیان ژن را تحریک می کند.

لیترا مرز سیتوپلاسم یا غشاء سلولی است برای عمل کردن به سلول های بدن و infectius (انتقال از یک سلول به سلول دیگر) نیاز دارد تا با آنزیم غشای سلول را پاره کند.

بیان یک ژن انرژی نیاز دارد و پس بی دلیل و بدون نیاز به آن ژنی بیان نمی شود.

دمای ۳۷°c یک عامل القاء کننده برای بیان ژن است. سدیم عامل مهارکننده است

در تولید آنزیم لکتیناز در چاچ ها لکتین عامل القاء کننده است

ژن های تولید آنزیم اکثراً Inducible اند مثلاً برای لاکتاز باید لاکتوز در محیط باشد.

غلظت منفی کربن هم است هرچه اگر غلظت آن (Inducer) افزایش یابد پس از شکستن و تبدیل به گلوکز اپراتور مهار کاتابولیکی می کند.
Catabolic repression

موادی که M.o در شرایط خاص به آن نیاز دارد ژن آن Inducible است

Subject:
Year. Month. Date. ( )

معمولاً فسفات ها و کلسیم خاصیت بافری دارند (بافر فسفات PBS)

Phosphate Baffer solution

K_2HPO_4 ، K_1HPO_4

این خاصیت بافری در حفظ pH و افزایش راندمان تأثیر دارد.

پیش ساز ها Precurcers

موادی که می توانند به مراد هم خانواده خود در تحریر تبدیل شوند مثل تبدیل سرد بوز به ویتامین ث مثل تبدیل اسید لاکتیک به پلی ساکارید لاکتیک

تبدیل گلوکز به پلی پیش سازیت

لینولئیک اسید

CLA ← ؟

پیش ساز

برای تعریف پیش ساز باید شناخت کاملی از M.o و چگونگی تبدیل پیش ساز به ماده دیگر را داشته باشیم.

مهارکننده ها Inhibitar

۱- دو دسته تقسیم می شوند : General ← در تولید همه محصول اثر دارند

۲- specific ← فقط روی یک محصول اثر می گذارد

Naso۳

مثلاً در تولید گلیسرول از سیر بی سولفات استفاده می شود که inhibitor روی آن تأثیر دارد و از مرحله تولید گلیسرول جلوگیری می کند. گلیسرول

استالدهید

القاء کننده ها Inducer

القاء کردن یعنی تحریک کردن M.o برای تولید بیشتر محصول که به نوعی M.o را کنترل کرده ایم.

بیان یک ژن یعنی ظهور ژن و تبدیل کد ژنتیکی به pro ← Gene expression

Subject:
Year. Month. Date. ( )

فصل هفتم

استریل کردن

آلودگی میکروبی الزاماً باید از بین برود

آلوده شدن کشت به میکروب آلوده ایجاد مشکلات زیر می کند :

۱- استفاده از محیط کشت و کاهش راندمان محصول

۲- بدن میکروب در محصول گاهی آلودگی به شمار می رود به مخصوص زمانیکه توده میکروبی مثل مخمر تولید شود .

در استارتر برای کارهای لبنی فقط سرودفیل در سرودفیل نوشته می شود حتی اگر غیر از Lb.bulgaricus و باشد مشکلی ایجاد نکند .

بانک های میکروبی :

۱- American type culture collection ATCC
۲- National type culture collection NTCC
۳- JCM
۴- Persian type culture collection PTCC

در فرآیند تداوم با conituse اگر میکروب مزاحم داشته باشیم ممکن است بعد از مدتی غالب شود و کل فرآیند را تحت تأثیر قرار دهد . و می تواند روی رشد M.O تأثیر منفی بگذارد

۳- گاهی میکروب آلوده کننده باعث تغییر محصول می شود مثلاً آنتی بیوتیک

میکروبهایی که آنتی بیوتیک روی آن عمل می کند دارای آنزیم هیدرولیز کننده آنتی بیوتیک است پس اگر در محیط کشت رشد کنند آنتی بیوتیک بی اثر می شود .

پس باید محیط کشت ، وسایل ، مایع تلقیح aseptic شود .

Subject:
Year. Month. Date. ( )

اکسیژن

هم در تخمیرهوازی و هم در تخمیر غیرهوازی به اکسیژن نیاز داریم هرچند در ساختار بدن وجود دارد اما عموماً به دلیل وجود در ترکیبات عنصری در مورد آنها نداریم .

در تخمیرهوازی available oxygen مهم است

میزان اکسیژن در دسترس ① دستگاه محیط کشت ② سرعت متابولیسم ③ و هم ضریب بستگی دارد .

① $Q_{O_2} \propto \frac{1}{V^2}$ با افزایش حجم میزان اکسیژن کاهش می یابد . ② دستگاه ↑ اکسیژن ↓

کمبود باعث عدم دسترسی به اکسیژن برای M.O می شود . و میزان عدم دسترسی بستگی به جنس دیواره کف دارد مثلاً اگر کف از pro دانه آشد بسیار پایدار است

مواردی که PH ، دمای محیط ، سرعت هم زدن

چه راه حل وجود دارد ؟

۱- با تغییر PH از کف باعث ملوگیری شود مثلاً PH را زیر ایزوالکتریک می بریم

۲- با استفاده از sonication که در تخمیر رایج نیست

۲- استفاده از anti foam

ضدکف ها

۱- باید غیرسمی باشند .
۲- قابل استریل کردن باشند
۳- ارزان قیمت باشند
۴- در غلظت کم تا مدت طولانی اثر خود را حفظ کند .

روغن ، اسیدچرب ، پروپیلن گلایکول ، الکل ها ، ترکیبات آمری ، سولفونات ها به عنوان ضدکف اند .

اگر کف بی ثبات باشد به اتمسفر هوا در محیط کشت کمک می کند مثل اتانول و متانول

تخمیر غیر هوازی

تخمیر هوازی (اکسیداسیون)

اسید اسیتیک

(۲۰)

استریل بودن کل مراحل غذایی است یعنی حساسیت در هم استریل کردن یکسان نیست.

در بعضی تخمها که protected است شرایط محیط کشت یا فعالیت Mo تغییراتی ایجاد می‌کند که احتمال رشد M.o زیاد می‌کند مثلاً در تخمیر سرکه انگور نباید استریل شود چون در طی تخمیر شرایط اسیدی شده و از رشد M.o دیگر جلوگیری می‌کند و یا در تخمیر آب جو یا تخمیر یا گرفتن الکل از خرما

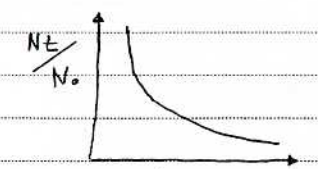
یا بعضی از تخمها نیاز به استریل کردن است و سعی می‌شود با pH یا خرما کنترل شود مثلاً ایجاد دنت آ در تخم است

در فرآیند حرارتی ایزوترمال (دمای ثابت) منحنی مرگ M.o به صورت لگاریتمی است.

$$\frac{-dN}{dt} = K N_1$$

N_1: تعداد اولیه

* ↑ Mo مقاومت ← ↑ D_{value} مرگ
* با کاهش دما D_{value} زیاد می‌شود.

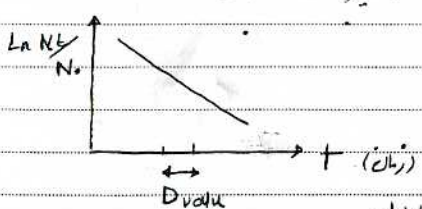


(Rate of survival curve)

$$D_{value} = \frac{t_2 - t_1}{\log N_1 - \log N_2}$$

$$Z_{value} = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2}$$

منحنی میزان مرگ حرارتی



در مرگ حرارتی: از تعداد اولیه

سوت ریختن که طول می‌کشد تا M.o یک سیکل لگاریتمی در دمای ثابت کاهش یابد.

D value: میکروبها در دمای ثابت ۹۰٪ آنها از بین می‌روند مقاومت آنها به حرارت یکسان نیست و هم با هم نمی‌میرند این یک مدل است.

Z value: درجه حرارت را چقدر تغییر دهیم که سرعت مرگ M.o ۱۰ برابر تغییر کند. یا یک سیکل تغییر کند. تعداد درجه حرارتی که زمان D_{value} یک سیکل کاهش می‌یابد

زمان در ۲۵۰°F

زمان در دمای انتخاب شده

Lethal rate (Min)

(۱۲۱)

$$F_0 = D_{value} (\log n_F - \log n_f)$$

رابطه بین سرعت و دمای واکنش ارنیوس ارنیوس استرالزاسیون

$$k = A e^{\frac{-E}{RT}}$$

آرنیوس

احتمال برخورد (دفعات برخورد)

Q_{10} یعنی با ۱۰°c افزایش دما سرعت واکنش چندبرابر می‌شود که در میلارد ۲-۸ است چون غلظتی از آمینو اسید است

$Q_{10} = F$ یعنی با ۱۰°c افزایش دما سرعت واکنش ۴ برابر می‌شود

Z_{value} یعنی دما را چقدر تغییر دهیم که سرعت مرگ ۱۰ برابر تغییر کند

$Z = 5$ افزایش ۵ درجه باعث می‌شود سرعت مرگ ۱۰ برابر شود.

Z value در واقع یک واکنش بیوشیمیایی است مثلاً دناتوره شدن pro ، D.N.A

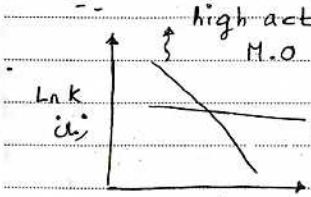
$$\log Q_{10} = \frac{10}{Z}$$

$$\text{lethal rate} = 1.^{\frac{T - T_0}{Z}}$$

با افزایش حرارت سرعت تخریب میکرو ارگانیسم بیشتر از تخریب مواد غذایی است.

Q_{10} میکرو ارگانیسم معمولاً ۱۰ است (۵ هم وجود دارد) اما برای مواد غذایی ۲ است. ← با افزایش درجه حرارت حساسیت سلولی نسبت به تخریب واکنش میلارد بیشتر است

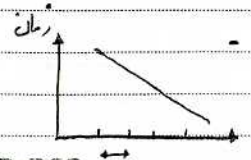
سرعت تخریب Mo ↑ ← ↑ سرعت تخریب ویتامین



TDT cure: درجه حرارت کم زمان زیاد ماده غذایی از دست می‌رود

درجه حرارت زیاد زمان کم Mo از بین می‌رود

TDT : thermal death curve



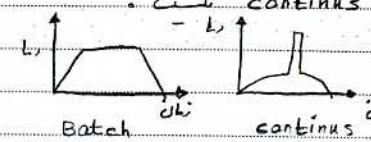
Subject:
Year. Month. Date. ( )

$$\log Q_{10} = \frac{10}{Z}$$

راه حل جلوگیری از حساسیت حرارتی :

۱- جدا کردن اجزاء در استریل مثلاً قند در محیط کشت جدا استریل شود که گران قیمت است

۲- استریل کردن continus به جای Batch که تابع دینامیک محیط کشت است و اگر دینامیک باشد امکان استریل کردن continus نیست .



تلفیق این دو روش هم امکان پذیر است .

توسعه مایه تلقیح Inoculum Development

تخمیر Fermentation proess

به ۳ روش عمده انجام می شود :

۱- Batch یا بسته

کل محیط کشت را در آغاز M.o می گذاریم و M.o رشد می کند تا به مرحله مرگ می رسد . و حجم ثابت است

۲- این روش عقیم زیادی می خواهد و سرمایه زیادی می خواهد و شرایط به سرعت تغییر می کند پس روش مؤثری نیست و هم مواد مغذی به یکباره در اختیار M.o قرار گرفته و میکروب ظرفیتش از آن استفاده نمی کند و کنترل آن آسان نیست

۳- در اکثر کارهای صنعتی از Batch استفاده می کنند و رشد M.o از نظر رفتار و نیازها بیشتر می شود .

در فعال اکثر M.o ابتدا در فاز lag یا Stationary phase است ،

۱- الزاماً در فاز لگ نشان از وجود زیاد M.o در آغاز رشد نیست

در فاز lag M.o mRNA زیادی دارد

در میکروب بسته مواد مختلف یکسان است و با تغییر شرایط در lag تغییر می کند .

(۲۱)

Subject:
Year. Month. Date. ( )

محیط کشت ما معمولاً مغذی اند و اثر حرارت را بر تخریب این مواد باید توجه کرد . حساسیت حرارتی نیست .

مثلاً ۶۰٪ قند دارد که با تخمیر میکروبی ۱۰٪ مصرف شده و ۵۰٪ قند می ماند که این قند تأثیر تازه خوری ندارد . در تهیه شیره خرما حرارت دادن باعث فاسد شدن کل می شود تخمیر الکل از خرما با M.o

zvalu ← ارتباط درجه حرارت و سرعت والکنش

D.valu ← سرعت M.o یکسان نیست

	Zvalu ۱۰	۵
۱۲۱	۰/۳	۰/۰۳
۱۲۱ °c ۳ min	۳	۳
۱۱۱	۳۰	۳۰۰

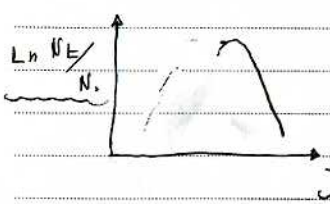
D value

در صنعت ITD کاهش می دادیم (از 10^{6} به 10^{-6})

در تخمیر PD کاهش است یعنی در هر ۱۰۰۰ Batch یکی آلوده است

شاخص فرآیند حرارتی باسیلوس استئاروترموفیلوس است که اسپور فرم است

یکی از راه های تبدیل اسپور فرم به رویشی حرارت دادن (Heat activation spare) است .



در کاهش بار آلودگی ادویه با حرارت دادن تعداد M.o ثابت می ماند چون تعداد جرانه زده با تعداد مرگ M.o برابر است .

راه حل : در pH اسیدی حرارت می دهند پس چون در pH اسیدی اسپورفرم به فرم رویشی تبدیل می شود .

اسپورها در شرایط بی هوازی فعالیت می کنند .

Feed batch حجم محیط کشت افزایش می‌یابد مگر در مواردی که ماده‌ای که اضافه شود گازی باشد یا

مزیت Fedbatch : خیلی علمی است.

می‌توان جمعیت را تا میزان کافی بالا برده بعد با سوبسترای محدود کننده رشد را متوقف کنیم و از ورود به فاز stationary جلوگیری می‌کنیم و تنها متابولیت خود را maintane نگه می‌داریم (مقاومت می‌کند) می‌کند و تنها نیاز خود را رفع می‌کند و جمعیت M.o ثابت می‌ماند.

کنترل دقیق باید روی رشد M.o باشد تا بتوان میزان سوبسترای محدود کننده را تعیین کرد چون اگر کمتر یا بیشتر از مقدار لازم باشد ایجاد مشکل می‌کند.

Fed batch ← With Feed back contol (بازخور) ← Direct / InDirect
Fed batch ← without " " ←

بازخور یعنی رشد متابولیت، تولید محصول با تغییر pH که برای زمان اضافه کردن سوبسترا می‌توان از آنها استفاده کرد.

در روش Direct اثر مستقیم اضافه کردن سوبسترا را بررسی می‌کنند مثلاً اندازه‌گیری مقدار گلوکز باقی مانده در محیط کشت یا اندازه‌گیری جمعیت یا اندازه‌گیری محصول

در روش InDirect مثلاً pH را اندازه می‌گیریم یا اکسیژن محلول یا RH

در روش without control براساس تجربه سوبسترا اضافه می‌شود مثلاً هر نیم ساعت یکبار یا ضرورت لگاریتمی

-۱ محاسن ← راندمان بالاست و می‌توان جمعیت و متابولیت توده سلولی را به مقدار بالایی رساند

در Batch ۰-۱۰ g/lit می‌رسد اما در این روش به ۱۰ برابر آنها می‌رسد.

در شرایط کنترل Batch M.O ساده‌ترین مثلاً ابتدا کربن زیاد است و هوا می‌شود و یا هوا سرعت رشد زیاد است و هوادهی هم

catabolic repression

کافی نیست سیستم به سمت بی‌هوازی می‌رود

culture

۲- Fed Batch (extended) (نیم مداوم)

هم اهرای را از اول در اختیار M.O قرار می‌دهد و ویژه سوبسترای محدود کننده مثل گلوکز و به تدریج هم به محیط کشت اضافه می‌شد.

در سال ۱۹۹۵ در تولید مخمر نانوایی استفاده شد تا مشکل هوادهی را حل کنند.

جمعیت میکروبی افزایش یافت و گلیسرول و استون و بوتانول را با این روش تولید کردند.

این روش برای تولید متابولیت‌های Non-Related و Growth Related metabolic primary کاربرد داشت.

نیاز بود بدانند در هر زمان چه ماده غذایی را اضافه کنند و نیاز است رفتار M.O را بدانیم.

۳- continuse یا روش مداوم

ورودی و خروجی دارد و سیستم بعد از مدتی به حالت پایا می‌رسد.

حجم و جمعیت M.O ثابت است.

جمعیت = رشد - M.O خارج شده

جمعیت میکروب نسبت به Fed Batch زیاد شد و سرعت رشد هم کم می‌شود.

برای تولید متابولیت اولیه و ثانویه استفاده شده است و برای تولید متابولیت ثانویه باید سرعت رشد را کم کرد.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

اگر در طی یک ساعت Flow باعث شود ۲ بار فالی شود ۲ بار آب در آن آمده

سرعت جریان ورودی

D = سرعت رقیق شدن یا Dilution rate

تعلیم مواد

$$D = \frac{F}{V} \quad \frac{m^3}{h} \quad (\frac{1}{h})$$

حجم

D = ۲ یعنی ۲ بار در ساعت ظرف ورد فالی شده است

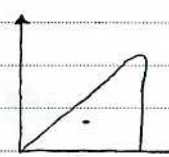
D = ۱/۲ در ۲ ساعت یکبار تعلیم می‌شود

هر چقدر D بیشتر باشد یعنی سوبسترای بیشتری در محیط داریم ولی الزاماً محصول بیشتری نداریم چون بستگی به فعالیت M.o دارد و توانایی آن در استفاده از سوبسترا

وقتی F را آن قدر زیاد کنیم و V ثابت باشد سوبسترای بیشتری وارد می‌شود.

پس می‌توان D را زیاد کرد تا محصول بیشتر شود ولی حدی است که بعد از آن D washout گفته می‌شود که چون M.o یاری شده است M.o دیگر توان استفاده از سوبسترا را ندارد و سوبسترا از ظرف دست نخورده خارج می‌شود

پس عمل continus تا این حد وجود دارد.



عیب این روش: ثابت ماندن حجم و شرایط مثل pH و استفاده در عفونات

عیب: ① بغرنج است ② محیط مکرب است ③ Fedbatch ④ محصول کم است چون رقیق می‌شود و حجم ثابت است

برای کنترل سیستم و رسیدن به حالت steady state روش‌های زیادی است

۱- chemostat ← براساس غلظت محیط کشت تنظیم می‌کند که انتقالی می‌افتاد کنترل در این روش با غلظت سوبسترا سوبسترا انجام می‌شود.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

۹۳

مثلاً در تولید پلی لاکتیک اسید نیاز است که حجمیت لاکتیک اسید باکتریا را به مقدار بالایی برسانند.

در تولید صمغ مثلاً زانتان از زانتوموناس رسکورتیس هوازی محیط ناطرب است که در این روش این میزان بیت مرن در FedBatch (۲-) دلیل افزایش حجم رقیق می‌شود. متابولیت‌های تانویه (growth related) را می‌توان در این روش تولید کرد. مرن تعداد رشد M.o می‌توان آن را maintane کرده

(۳-) در این روش با دلیل maintane کردن M.o دیگر نوع ژنتیکی نداریم مرن حجمیت ثابت شده است و تقسیم شدن دیگر اتفاق نمی‌افتد. ۱۰۱ در continus نوع ژنتیک داریم.

عیب: ① خرینه بیشتری دارد ② ویژه در Feedback control که کنترل شرایط استریل مشکل است.

(۲) در روش without Feedback رفتار M.o مثل مثل بیت و کنترل رفتار M.o سخت است

(۳) نیاز به تخصص بالا دارد

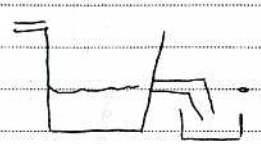
در این روش از catabolic repression طولانی می‌شود و over load (crab trase effect) می‌گذاریم M.o می‌گذاریم

۳- continus

در هر دو می M.o ① محیط کشت استفاده شده ② محصول وجود دارد.

X = وزن Biomass

$$x = \frac{X}{V} \quad (\frac{g}{ml}) \quad \text{مقدار مشخص} \quad \text{غلظت}$$



در این حالت برای ثابت ماندن حجم باید ورودی و خروجی یکسان باشد.

$$\frac{dx}{dt} = 0$$

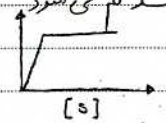
Subject:
Year. Month. Date. ( )

تعیین اثر سوبسترا روی μ :

تأثیر غلظت سوبسترا در سرعت رشد M.o در شرایط Batch :

با افزایش غلظت سوبسترا Biomass ، مقدار M.o افزایش می‌یابد . تا حدی روی سرعت رشد اثر همدانی ندارد . البته در مورد یک غلظت سوبسترا بیش از حد نیاز میکروب باشد ، اگر کمتر از این حد باشد حتماً سرعت رشد کم می‌شود .

غلظت سوبسترا تا حدی باعث افزایش μ می‌شود بعد μ ثابت می‌شود .

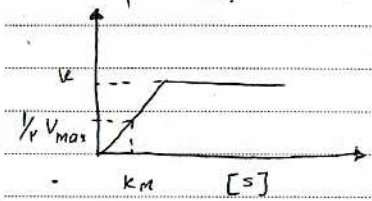


سرعتی معادل k_m غلظتی از سوبسترا است که $\frac{1}{2}$ سرعت Max را داشته باشد

رابطه میکائیلس - منتن $\mu = \frac{\mu_{max}[S]}{k_m + [S]}$

k_m هرچه کوچکتر باشد بخاطر است ، سرعت affinity آنزیم و سوبسترا بیشتر می‌شود و آنزیم در غلظت کمتر از سوبسترا هم فعالیت دارد و به حالت اشباع می‌رسد .

R_m نشان می‌دهد که میزان رابطه آنزیم و سوبسترا تری است



M.o برای استفاده از سوبسترا باید آن را به روش passive یا active وارد سلول کند که این عمل تحت تأثیر آنزیم است معمولاً در داخل سلول تن با آنزیم آن را می‌شکند و مصرف می‌کند ← فعالیت و رشد میکروب را تأثیر فعالیت آنزیم است

رابطه مونود ، صورت تجربی حاصل شده است اما رابطه میکائیلس - منتن تئوری است

رابطه مونود $\mu = \frac{\mu_{max}[S]}{k_s + [S]}$

k_s ثابت رشد M.o

k_s عامل غلظتی از سوبسترا است که نصف μ_{max} را ایجاد کند

هرچه k_s ↓ affinity ، سوبسترا بیشتر است ، و در غلظت کم سوبسترا می‌تواند

Subject:
Year. Month. Date. ( )

۲۴

نتیجه : غلظت سوبسترا در رشد M.o اثر می‌گذارد

سینتیک M.o

M.o مطابق با تابع نمایی جمعیت آنها افزایش می‌یابد

$N_t = N_0 \times 2^n$

۱ ۲ ۴ ... $N_0 \times 2^n$

2^0 2^1 2^2

$N_t = N_0 \times 2^n$

$\log N_t = \log N_0 + n \log 2$

$n = \frac{\log N_t - \log N_0}{\log 2}$

تعداد دفعات تقسیم سلول با گذشت زمان t

$\frac{n}{t} = \frac{\log N_t - \log N_0}{t \log 2} = k$ ثابت تقسیم سلول

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ۱ روز یکبار تقسیم می‌شود .

سالمونلا E.coli ۲۰ دقیقه‌ای است

$t_d = \frac{t}{n} = \frac{1}{k}$ ← generation time

برحسب دقیقه یکبار تقسیم رخ داده است $\left(\frac{\text{زمان}}{\text{دفعات}}\right)$

در کشت میکروبی تغییر وزن سلول ، زمان تابع Biomass است

$\frac{dx}{dt} = x \cdot \mu$

$\frac{1}{x}\frac{dx}{dt} = \mu$ رشد ویژه ↓ رشد مخصوص

وزن تر یا وزن اولیه

$\int \mu = \int_{x_0}^{x_t} \frac{1}{x} dx/dt \rightarrow \mu = \frac{\ln x_t - \ln x_0}{t}$ g/s

$\int_0^t \mu\, dt = \int_{x_0}^{x_t} \frac{1}{x} dx$

x وزن موجود در زمان

dx/dt تقسیم بر x یعنی تغییرات رشد نسبت به ماده اولیه

سرعت رشد ویژه = (μ) sepcific growth rate

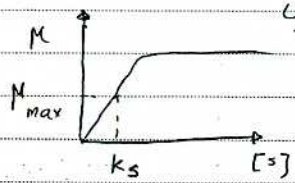
$\mu = \frac{1}{x}\frac{dN}{dt} = \frac{1}{N}\frac{dN}{dt}$

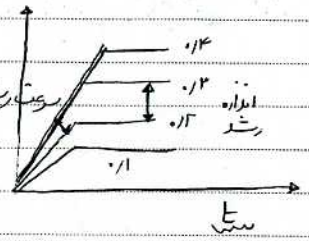
(۲۵)

فعالیت کند.

k_s M.O خیلی کم است ۱.۱ اگر کم نبود هیچ میکروبی نداشتیم.

منحنی k_s سوبسترا است





سرعت رشد

هرچقدر غلظت سوبسترا بیشتر شود ۱.۱ بعد از مدتی سرعت رشد (شیب) ثابت شده.

۱.۱ اندازه رشد زیاد می‌شود ← غلظت سوبسترا در سرعت و اندازه رشد اثر دارد.

این سلول به توان متابولیکی M.O برمی‌گردد که به هیچ فاکتور بستگی دارد:

توان متابولیکی = $q_{M.O}$

۱- Yeild یا راندمان سوبسترا

$Y_s = \frac{X - X_0}{S}$ $\frac{g\ biomass}{g\ substrate}$

وزن بیومس / وزن سوبسترا

$\frac{dx}{dt} = X_0 \times \mu$

$\mu = \frac{dx}{dt} \times \frac{1}{x}$

$q = \frac{\mu}{Y_s}$

μ سرعت رشد و اندازه رشد اثر دارد

q در continus و Fed batch اثر خود را نشان می‌دهد.

هرچه q بیشتر باشد دورتر به $D_{wash\ out}$ می‌رسیم.

لیپیدها

در پپتون اول M.O به k_s کمتری دارد رشد می‌کند و غالب است.

در اوایل که لاکتوز زیاد است هم میکروبها با k_s مختلف رشد می‌کنند ۱.۱ بعد میکروبی که k_s کمتری دارد غالب می‌شود و سرعت رشد بیشتری دارد.

مثلاً سرات

بعد از مدتی که لاکتوز از میان k_s کمتر شد M.O سراغ سوبسترای دیگر می‌رود.

به همین دلیل است که عطر و طعم متفاوت در فصول ایجاد می‌شود

این اتفاق‌ها هم در فساد مواد غذایی و هم در تولید محصولات اتفاق می‌افتد.

k_s در شرایط ثابت، ثابت می‌ماند و تابع شرایط محیط است پس کنترل آن سخت است. همین دلیل و تحقیقات که در Batch انجام می‌شود تحقیق درستی نیست چون شرایط تغییر می‌کند.

به دلیل تنوع M.O و تنوع سوبسترای موجود عطر طعم متفاوت می‌شود ضمن آنکه در Ripening تغییر شرایط محیط، این امر کمک می‌کند.

k_s میکروبهای موجود در یک متن به هم نزدیک است.

k_s میکروبهای پاتوژن هم نسبتاً بالا است

Subject:
Year. ۱۸ Month. ۸ Date. ۲۹ ( )

۲۶ مبحث هم

طی ۵ ساعت تعداد سلول میکروبی ۱۰ به ۱۰۰ میلیون رسیده است k ، doubling time را محاسبه کنید.

$$k = \frac{\log N_t - \log N_0}{t \log 2} = \frac{\log 10^8 - \log 10^7}{5 \log 2} = \frac{8 - 7}{5 \times 0.3} = \frac{1}{1.5} = 0.67 \ h^{-1}$$

$$t_d = \frac{1}{k} = \frac{1}{0.67} = 1.5 \ h$$

در ساعت کار تقسیم شده است

$$t_d = \frac{t \log 2}{\log N_t - \log N_0}$$

N تعداد سلول در زمان t ✓ زمان تولد

$$t_d = \frac{t \ln 2}{\ln x_t - \ln x_0}$$

$$t = \frac{t_d (\ln x_t - \ln x_0)}{\ln 2}$$

$$\mu = \frac{\ln x_t - \ln x_0}{t} \rightarrow t = \frac{\ln x_t - \ln x_0}{\mu}$$

$$\Rightarrow \frac{\ln x_t - \ln x_0}{\mu} = \frac{t_d (\ln x_t - \ln x_0)}{\ln 2}$$

$$\Rightarrow t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \Rightarrow t_d = \frac{0.693}{\mu}$$

مثلاً برای بررسی نگهدارنده بر رشد M.O از این رابطه t_d را محاسبه می‌کنیم.

$\log 2 = 0.3$
$\ln 2 = 0.693$

Subject:
Year. Month. Date. ( )

$K = \frac{\log N_T - \log N_0}{t \log 2} = \frac{V}{3} = 2.3$ (۱.۲) تمرین

$t_d = \frac{t \log 2}{\log N_T - \log N_0}$

$\frac{\log N_T - \log N_0}{t \log 2} = \frac{3}{0.3} = 9.23$ زمان تولید

$k = \frac{n}{t}$ $n = k t = 2.3 \times 10 = 23$ تعداد نسل

الف) تعداد دفعات تقسیم سلولی با تقاضای

$t_d = \frac{\log 2 \ t}{\log N_t - \log N_0} = \frac{0.3 \times 10}{7} = \frac{3}{7} = 0.43 \ h$ ب) Generation time

ج) k را محاسبه کنید

$k = \frac{1}{t_d} = \frac{7}{3} = 2.3 \ (h^{-1})$

د) μ

$\mu = \frac{0.693}{t_d} = \frac{0.693}{0.43} = 1.6$

ه) سرعت رشد در سرطان آمز مقدار برده است؟

$\frac{dx}{dt} = \mu x$ سرعت $\left(\frac{g}{h}\right)$ $\frac{dx}{dt} = 1.6 * 10^9 \ cell/h$

باید بین قدر مطلق محصول تولیدی و توان متابولیکی میکروب تفاوت قائل شد.

ع) افزایش تعداد M.O باعث افزایش محصول تولیدی می‌شود که البته بستگی به فاز رشد دارد growth related, non growth related

K_s برای E.coli در مورد گلوکز $0.18 \ mg/L$ است

سودوموناس در مورد فروکتوز $0.5 \ gr/gr$ = راندمان

Y_s راندمان $= \frac{X - X_0}{S}$ Biomass $0.5 \ g$ یعنی به ازای $0.5 \ g$ فروکتوز دارم. $(90 \ gr/mol)$

تفاوت در راندمان‌ها به دلیل تفاوت در توان متابولیکی است که نشان می‌دهد توانایی میکروب در استفاده از سوبسترا که البته به سرعت رشد هم رابطه است

Subject:
Year. Month. Date. ( )

در رشد یک سلول اصل غلظت ماکرومولکول ها زیاد می شود و طول میکروب دو برابر می شود مثلاً در Binary fussion در باکتری سلول ای و بعد تقسیم می شود.

ماکرومولکول ها شامل DNA ، گالاکتوزامان (مغز دیواره و ...) ، RNA

این افزایش غلظت ماکرومولکول ها و اندازه اجزای سلول بطور متعادل مناسب با هم زیاد می شود (Balanced grawth = رشد متعادل)

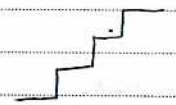
وقتی در شرایط جدید قرار می گیرم میزان RNA و پروتئین ریبوزومی افزایش می یابد

lag Phase ، Deselcration ، acceleration

و رشد Balanced سلت میزان می تواند با محیط سازگار شود

وقتی شرایط عادی شد دوباره رشد متعادل می شود.

اگر هم میکروبها با هم رشد می کردند و تکثیر می یافتند سنفی رشد پلکانی می شد.



در رشد هاشنگ سلت و در هر لحظه یعنی میکروبها در فاز lag (یعنی در فاز lag ...) است. پس در این حالت رشد a synchronous است. این تغییرات به دلیل جهش و اتفاقات دیگری است که ایجاد می شود.

اگر رشد synchronous بود می توان برای کارهای عملیاتی و بررسی رفتار M.O استفاده کرد. مثلاً با شوک دادن یا ماتریشور کردن M.O هایی که متفاوت اند را جدا کنیم.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

$\frac{ds}{dt} = q \times X$ ← رشد میکروب ، سرعت مصرف سوبسترا

$\Rightarrow q = \frac{1}{X}\frac{ds}{dt}$ ← توان متابولیکی

فرض بر این است که همه سوبسترا صرف تولید Biomass شده است

$\frac{dx}{dt} = X_0 \times \mu \Rightarrow \mu = \frac{1}{X_0} \times \frac{dx}{dt}$ ← سرعت رشد ویژه

$q = \frac{\mu}{Y_S}$ ← راندمان

$Y_S = \frac{dx}{ds}$ ← تغییرات سوبسترا / تغییرات Biomass (راندمان)

$\frac{\mu}{Y_S} = \frac{1}{X}\frac{dx}{dt} \cdot \frac{ds}{dx} = \frac{1}{X}\frac{ds}{dt} = q$

$\Rightarrow \frac{\mu}{Y_S} = q$

$q = \frac{\mu \text{ (ثابت)}}{Y_S \text{ راندمان}}$ ← نشون می دهد توان نگهداری

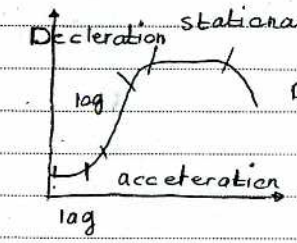
وقتی $D_{wash\ out}$ برسیم افزایش سوبسترا یا μ فایده ای ندارد چون q صفر شده است ← توان متابولیکی

و راندمان Y_S تغییری نمی کند. (صعودی شود)

در رشد لگاریتمی q ثابت است چون μ و Y_S ثابت است.

اکثر رابطه های سینتیک اند رابطه موفاد تجربی Imperical اند.

بررسی رشد M.O

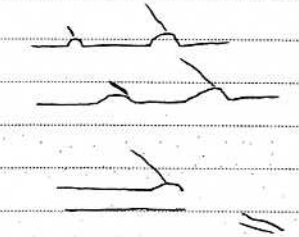


در M.O stationary حالت rest داریم. رفتن و سرعت تقسیم سلولی کم می شود. Biomass تولید می شود اما محصولات دیگر تولید می شود تا با دیگران رقابت کند و در شرایط سخت از آن استفاده کند.

باکتریوسین ها اکثراً بر هم خانواده خود تأثیر می گذارند

(۲۸)

اگر سرعت تقسیم سلولی بسیار زیاد بود : هرزمان ۲ یا ۳ تا از یک DNA همانندسازی می‌شود و بصورت continus می‌رویم .



continuous

① پس رشد individual و تره سلولی راکد است .

② رشد خطی متقابل است .

③ شروع رشد کلنی سلولی در هر سلولهایشان نیست .

④ اگر سرعت تقسیم سلولی کم باشد همانندسازی Discontinuous است L1
اگر سرعت تقسیم زیاد باشد همانندسازی continuous است (مرکز همانندسازی DNA است)

۸۹/۹/۶

علم دهم

Biotechnology = Industrial Microbiology

بیوتکنولوژی = استفاده از M.O در فرآوری های مختلف (منابع ژنتی)

در این تکنولوژی ۲ چیز نیاز است : ۱- میکروب
۲- تجهیزات

در Bio انواع موجودات زنده بمنظور تولید انواع محصولات استفاده می‌شوند .
پس می‌توان از پروکاریوت و یوکاریوت استفاده کرد .
موجود زنده با ساختار ابتدایی

اگر در وسط نمودار lag یک ماده جدید مثلاً قند جدید وارد کنیم دوباره یک فاز lag داریم و این رشد Diauxic می‌گویند

این موضوع در رشد Diauxic در غذا هم است که منبع کربن و هورمون دارد یعنی اول کربنی که k_s کمتر است مصرف می‌شود و بعد سراغ منبع دیگر می‌رود پس در اینجا یک lag phase داریم .

اطلاعات در مورد انتقالات داخل سلولی مربوط به E.coli است .

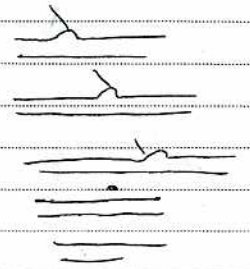
دو تکثیر M.O در موضوع مهم است :
۱- DNA همانندسازی شود
۲- دیگر ساختارهای سلولی هم باید وجود بیاید .

زمان تکثیر DNA در سلول ثابت است مثلاً ۴۰ دقیقه طول می‌کشد (باز شدن DNA و کپی کردن و تبدیل به DNA جدید تا فعال باشد)

مدت زمان بعد از همانندسازی تا تکثیر یا تقسیم سلولی ثابت است .

اگر سرعت همانندسازی ثابت است پس چطور سرعت رشد M.O را ۱,۲ تغییر می‌دهیم ؟

باید قبل از اینکه DNA بطور کامل همانندسازی شود سراغ همانندسازی DNA دیگر برود تا سرعت تقسیم سلولی از زمان همانندسازی بیشتر شود .



→ Dis-continuous

۲۹

اگر بخواهیم از سوخت‌های فسیلی استفاده کنیم هزینه زیادی تولید می‌کند و آلودگی زیادی دارند و به همین دلیل تقاضای زیادی دارند که استفاده می‌شوند.

all living cell
- Prokaryot → Microscopic, simple structure → Bacteria
- Eukaryot → Microscopic, Macroscopic, advanced cell structure → Mold, yeast, Algae

از ارگانیسم در صنعت تخمیر استفاده می‌شود که:
۱. رشد و تکثیر راحت باشد.
۲. دوره رشد کوتاه باشد.
۳. از مواد ارزان قیمت استفاده کند.
۴. عوامل downstream (جداسازی و خالص‌سازی) ساده باشد.

این سوخت‌ها به دو فرم قابل استفاده‌اند:
۱- فرمی که در طبیعت هستند wild type
۲- براساس genetic Engineering آنها را دستکاری (Modify) می‌کنیم.

علت دستکاری ژنتیکی:
۱- میکروب یک قدرتی دارد اما در فرم wild type برای مصارف صنعتی و تولیدی مرغوب به صرفه نیست.

۲- برای ساده کردن سازه‌ها تقاضای

۳- کاهش زمان تکثیر

اگر M.O به فرم wild باشد آنزیم ۳٪ آنزیم سرنگ تولید کند از رشدش جلوگیری می‌کند پس با اصلاح ژنتیکی مقاومت به آنزیم سرنگ بیشتر می‌شود

مثلاً در مورد الکل M.O ۴-۵٪ الکل تولید و نسبت به آن مقاوم می‌شود اما اگر اصلاح شود تا ۳۵٪ هم می‌تواند الکل تولید کند.

برای تولید EPS از فرم اصلاح شده استفاده می‌شود. آنزیم گلیکولیز فسفوفروکتوکیناز

از کلوکز تولید پلی‌ساکارید می‌کند تولید این آنزیم در گلرو میان ژن است.

بتا سیلیم از بتا سیلیم ترکاتم تولید می‌شود

برای دستکاری ژنتیکی باید از سیستم اطلاعات ژنتیکی آگاهانه که دو صفت دارد:

۱- گلروموزوم سه ژن‌هایی که تولید محصولاتی می‌کنند که برای رشد Mo لازم است در گلروموزوم ۱ ست به آن DNA می‌گویند و در Mo به آن نوکلئوئید می‌گویند.

۲- پلاسمید ژن‌های تولیدی تعداد بالایی وجود دارد. حداکثر ۵۰ ژن دارد.

۴۰۰۰ ژن - طور متوسط در گلروموزوم بالایی وجود دارد. در انسان ۱۰۰،۰۰۰

۱- Gene library توالی ژن‌ها را شناسایی کردند توسط DNA hybridation یک توالی را شناسایی کرده و رشته را از هم جدا کرده و مایل آن رشته را می‌سازند → ژن و جداسازی → برای آن باز و تکثیر

از DNA → مزایت دارد → linear → هموژن

پلاسمیدها مجموعه‌ای از اطلاعات ژنتیکی هستند که حداکثر ۳۰-۴۰ ژن دارد و ارزش حیاتی ندارند اما توانایی‌های فوق‌العاده را برای میزبان آنها ایجاد می‌کند مثل پسودوموناس putida که برای هضم آلاینده‌های نفتی به کار می‌رود و ژن نسبت همواری دارد که می‌تواند paraben (آلیلان، بنزن) را هضم کند اما زمان هضم آن طولانی است با دستکاری ژنتیکی این زمان را کاهش می‌دهد.

مثلاً ژن تولید آنتی بیوتیک مروری پلاسمید است. بتا سیلین توسط بتا سیلیناز هضم می‌شود.

یک ژن از قسمت‌های مختلف تشکیل شده است.
۱- اپراتور یا راه انداز
۲- پروموتور

Promotor — roparatere — Gene structure — termiAptor

برای بیرون آوردن DNA از سلول اول باید دیواره را تخریب کنیم بعد DNA را خالص سازی کنیم

ابتدا باید DNA را با نوکلئاز از سلول مورد نظر درآورده بعد در سلول مورد نظر DNA را با نوکلئاز از هم جدا کرده و با آنزیم لیگاز DNA اصلاح شده را به آن وصل کنیم.

برای وارد کردن پلاسمید به سلول:

۱- انواع الکتریسیته به دیواره شوک وارد کرده همراه با این شارژ در دیواره که شکاف است فاصله ایجاد می‌شود تا پلاسمید به سلول وارد شود.

۲- آنزیم لیزوزیم برای تخریب دیواره

۳- استفاده از ترکیبات سورفاکتانت مثل سدیم کلاکول

Main host ← مثلاً باسیلوس سابتیلیس که DNA را از آن استخراج کردیم

Intermediat host Ecoli ← در درمان موقت ابتدا بررسی می‌کنیم که پلاسمید داخل سلول شده است یا نه مثلاً سرتا را در افتیار M.O قرار می‌دهیم مثل بتی سیلین، Ecoli در حالت عادی بتی سیلیناز تولید می‌کند اما در صورتیکه پلاسمید اصلاح شده وارد آن شود می‌تواند بتی سیلین را تجزیه کند اگر نتوانست آن را تجزیه کند ← یا DNA اصلاح نشده است
یا پلاسمید وارد سلول آن نشده است

علت استفاده از Ecoli ① گرم منفی و کم نیاز است ② سرعت رشدش خیلی زیاد است

بعد از بررسی بر Ecoli DNA را وارد سرطان اصلی می‌کنیم.

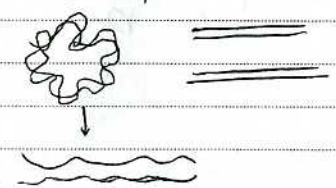
می‌توان اصلاح را در هر این قسمت‌ها انجام داد.

مرور مرور: بخشی که از آنزیم RNA پلی‌مراز صفت می‌شود بخش سیگنالکوز RNA پلی‌مراز با مرور صفت می‌شود و وظیفه بخش نوع RNA پلی‌مراز است

RNA پلی‌مراز RNA ای است که عمل الگوبرداری از یک ژن را انجام می‌دهد

Transcription

Replication ← همانندسازی در هنگام تکثیر DNA رخ می‌دهد. در محل origin of replication حلقه باز و خطی شده و دو رشته از هم جدا می‌شود و از روی هر کدام همانندسازی می‌شود



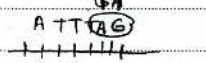
به اندازه تعداد ژن‌ها RNA پلی‌مراز وجود دارد و به تعداد نوع محصولات تنوع RNA پلی‌مراز وجود دارد

وقتی یک ژن الگوبرداری می‌شود mRNA است بعد وارد ریبوزوم رفته و pro تبدیل می‌شود.

در aprator دارای کدان شروع است و شروع الگوبرداری از این جاست Terminatien علامت قاطع الگوبرداری است

برای بریدن DNA نیاز به نوکلئاز است

اگر در promator نوکلئوتید را عوض کنیم می‌توانیم سرعت صفت شدن سیگنالکوز را promator کم کنیم.



Subject:
Year. Month. Date. ( )

اگر مرنه فیلی زیاد و نه کم باشد کل DNA به دو یا سه تکه تبدیل میشود ۱۱
اگر مرکم باشد تعداد تکه های DNA زیاد می شود.

حامل یا carier یا وکتور :
می توانند پلاسمید یا ژنی که منشأ آنها ویروس باکتری است.
این پلاسمیدها را می توان اصلاح کرد و وارد میزبان نمود

pBR 322
↓
پلاسمید

واحد اندازه گیری ژن Gene base pare است

پلاسمید ← DNA غیر مستقل خارج کروموزومی - صورت دورشته ای و حلقه ای است
پس تمام ژن ها هرسازی داشته باشد دارای مکمل هم است به همین دلیل در واحد اندازه گیری از base pare استفاده می کنند.
مثلاً 1 kbp یا 1000 bp یا 1000 نوکلئوتید

جلسه یازدهم ۱۳۹۱/۹/۱۹

انواع Modification :

۱- Gene manipulation که از پلاسمید استفاده می شود

۲- Thraugh plasmid replacement

۳- ادغام پروتوپلاست protoplast fusion

۴- Bacteriophage

Subject:
Year. Month. Date. ( )

۳۱

این آنزیم های مورد استفاده، آنزیم های محدود کننده یا برش دهنده Restriction Enzyme می گویند

تمامی این آنزیم ها را از میکروب استخراج می کنند و از منشأ پروکاریوت است
تا حالا ۳۰۰-۲۰۰ نوع آن شناسایی شده است.

به سایت اثر این آنزیم ها Restriction site می گویند که توالی نوکلئوتیدی است که از ۴-۹ نوکلئوتید می تواند باشد. مثلاً تترامر (یعنی ۴ تا نوکلئوتید است)

نام گذاری آنزیم های محدود کننده
زیرگونه اسم جنس (با حرف بزرگ)
Eco RI
اسم گونه (با حرف کوچک) ۲ حرف اول
تعداد آنزیم Restriction استخراج شده

Eco RI Eco RII Eco III

اسامی آنزیم ها Italic است Italic با نوع ژن آن را می نویسیم (اگر ژن مهندسی شده باشد)

در کارهای صنعتی عمدتاً باید از زیرگونه استفاده کرد.

Hin dI ← haemophilus influenza
جنس گونه

restriction site نه فیلی بزرگ نه فیلی کوچک مناسب است.

مثلاً اگر فقط AT باشد می تواند در نقاط مختلف DNA بچسبد و واکنش های نامتعارفی رخ می دهد.

مثلاً اگر ۸ نوکلئوتیدی باشد هر 4^8 نوکلئوتید وجود دارد شانس پیدا کردن آن به وسیله آنزیم را کم می کنیم.

(۳۲)

(بخش) Gene manipulation

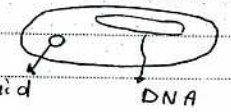
① با برداشتن Terminator pro به مقدار خیلی زیاد تولید می‌شود و به‌طور مداوم

با اضافه کردن ترکیبات به پروموتور می‌توان اختصاصی‌تر عمل کرد.

اگر روی ساختار اصلی ژن تغییر ایجاد کنیم اسیدآمینه تولید شده و active site تغییر می‌کند

② Through plasmid replacement

می‌توان اصلاح ژن را در پلاسمید نیز انجام داد.

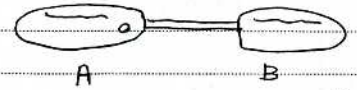


برای اصلاح باید دیواره را تخریب و ژن را اخذ کنیم.

مثلاً ژن نفت‌خواری در روی پلاسمید ژن A است اما در B وجود ندارد ابتدا ژن نفت‌خواری را جدا کرده و اصلاح می‌کنیم و وارد باکتری B می‌کنیم.

می‌توان ژن نفت‌خواری را اصلاح کرده و یا نه.

اگر اصلاح کردیم می‌توان دوباره وارد باکتری A کرد.



اگر نخواهیم بدون اصلاحات ژن را وارد B کنیم نیاز به پل conjugation است.

(انتقال ژن با پلاسمید)

انتقال ژن از گرم منفی به منفی یا از مثبت به مثبت آسان است اما انتقال ژن از منفی به مثبت یا بالعکس سخت است پلاسمید در این حالت باید طوری باشد که در میزبان دوم بتواند دوام بیاورد.

پس میزبان انتهایی باید بسیار شبیه میزبان اول باشد.

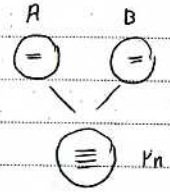
باسیلوس لی کنی فرمیس در شرایط دمایی بالا نشاسته را به گلوکز می‌شکند و راحت‌تر است گرم مثبت که ژن شکستن نشاسته را به باکتری گرم مثبت منتقل کنیم اما همین گرم مثبت‌ها پرتیاز است می‌توان به گرم منفی منتقل کنیم.

③ protoplast fusian

باکتری با سلول بدون دیواره سلولی را پروتوپلاست می‌گویند که همگی باکتری گرم مثبت است

اگر باکتری گرم منفی باشد دیواره را از دست بدهد ← اسفروپلاست

با این روش دو باکتری روی هم قرار می‌گیرند با این کار سه حالت ممکن است اتفاق بیفتد:

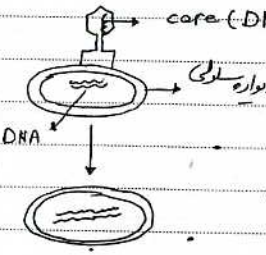


① = ② = ③ =

در مورد سلول‌هایی که هم ماده ژنتیکی زیاد است از این روش استفاده می‌شود هزینه اندک شکستن دیواره DNA وجود ندارد

④ Bacteriophage

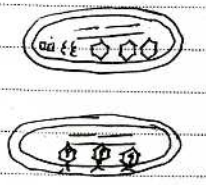
باکتریوفاژها ویروس‌های باکتریایی‌اند



DNA ویروس غنی از ماده ژنتیک باکتری می‌شود و هیچ سلول باقی می‌ماند (هزینه نیز ژنتیکی)

گاهی بخشی از ژن باکتری هم همراه ژن‌های ویروس جدا شده و وارد هرفج و Lytic cycle می‌شود (هرفج عمل کنید)

و قسمت‌های مختلف ویروس ساخته شده بعد دیواره باکتری را پاره کرده و باکتری جدید عمل می‌کند



این عمل جابه‌جایی ژن transduction می‌گویند که فاژها واسطه‌اند

Subject:
Year. Month. Date. ( )

transformation ← ژن در محیط است و هم باکتری منتقل می‌شود.

UV می‌تواند باعث ورود هر نوع lytic شود.

کلیه نقل و انتقالات ژن در اصلاح : ...

انتقال باکتری
- conjugation → با پلاسمید ژن منتقل شود
- Transduction → ژن توسط باکتری می‌رود
- Transformation → خارج‌ها واسطه‌اند و ژن را منتقل می‌کنند

lysogenic conversion = تغییراتی که در باکتری میزبان صورت می‌گیرد به دلیل همزیست با ماده ژنتیک یک ویروس lysogen

استرپتوکوکوس پرومونیا بیماری‌زاست مگر آنکه با یک ویروس همزیست باشد که ژن تولید سم از ویروس به باکتری منتقل شود.

اگر DNA استرپتوکوکوس پرومونیا مرده در کنار سلول باکتری غیر بیماری‌زا قرار دهیم به مرور زمان سلول بیماری‌زا می‌شود به دلیل transformation (انتقال بی‌واسطه) چون غلظت DNA بیماری‌زا در درون زیاد است به جایگاه غلظت DNA بیماری‌زا کم است می‌رود (گرادیان غلظت)

با تفنگ الکترونی که منافذ دیواره را گشاد می‌کند هم DNA از جایگاه غلظت بالاتر برود به داخل می‌رفت (به دلیل افزایش حساسیت دیواره سلولی)

کلسیم برتولیزوم هم سم برتولیسم تولید می‌کند به علت همزیستی با باکتریوفاژ

تغییر در عکس‌برگردان سویی وکلیی

با غلظت نمک فاصله مثل مکرر سدیم علاوه بر الکترسیته می‌توان دیواره سلولی را ماس کرد و یا سورفاکتانت‌ها ... در غیر این صورت و عدم ایجاد حساسیت از دیواره سلولی فقط DNA کروموزمی منتقل می‌شود.

Subject:
Year. Month. Date. ( )

سایز ژن در اینجا روش Modification نقش اصلی دارد.

restriction Enzyme هم از نوع نوکلئاز اند و یک توالی خاص را شناسایی می‌کنند:

① Endo Nucleas : در داخل DNA و در هم جا اثر می‌گذارند

② Exo nucleasc : از سر DNA اثر می‌گذارند

restriction Enzyme از سر ۳' به ۵' اثر می‌گذارند

Exo nuclease سرعت کار فیلی کند است و در کارهای مهندسی سر از Endo استفاده می‌شود که بازهم از ۳' به ۵' اثر می‌گذارد ولی از جاهای مختلف می‌تواند اثر کند.

۱- اگر برش به صورت خط مستقیم باشد Blunts end می‌گویند.

۲- اگر به صورت لبه برش دهد sticky می‌گویند که در این روش امکان برگشت و اتصال هم است.
پس بعد از برش باید دم‌ها را جدا کنیم چون ممکن است دوباره به هم وصل شوند و روی هم بیفتند.

sticky و Blunt در طرف تصویر آنها را ...
به صورت پلاندرومی که در این حالت تقارن
palandromid می‌گویند

C A G c t G
G T c G A C
انتهای صاف

A G A T C
T c T A G

A GATC
T cTA G
انتهای چسبنده

در حالت Blunt قرار دادن ژن بین آنها لیگاز راحت آنها را به هم وصل می‌کنیم
اما در sticky بهتر است استفاده نشود و یا باید انتهای چسبنده هماهنگ
چون ممکن است قبل از قرار گرفتن ژن بین آنها روی هم قرار گیرند

Subject:
Year. Month. Date. ( )

در انتقال ژنتیکی همه مراحل‌های عملیات باید انجام شود (استخراج DNA ، برش ، آماده سازی ژن ، وارد کردن ژن روی پلاسمید ، وارد کردن پلاسمید به سلول ، آخر هم آوردن روی کلنی ، سرزبان مرواسط ، درآوردن از سرزبان مرواسط دوردن ، سرزبان بخایی که فقط راه دارند می‌کند ولی اگر از پلاسمید استفاده کنیم مرحله آخر را راحت‌تر می‌کند.

plasmid copy number ← تعداد پلاسمیدهای کپی شده در سلول

اگر فقط یک کپی باشد باید تکثیر هر دو پلاسمید را مزاحم کنیم اما اگر همین کپی داشته باشد نیاز نیست

معمولاً ۵-۳ یا ۳۰ کپی از پلاسمید در باکتری وجود دارد

تنوع سیستم ژنتیکی باکتری‌ها ← لفاظ داشتن انواع پلاسمید زیاد است.

پلاسمیدهایی که سرمنشأ آنها خود باکتری است برای انتقال ژنتیکی مناسب‌تر اند.

A ۳۳P

Subject:
Year. Month. Date. ( )

(۳۴)

انتهای چسبنده می‌تواند هم در پلاسمید ایجاد شود هم DNA

با آنزیم overhanging می‌توان انتهای چسبنده را هدف کرد.

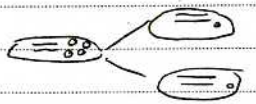
Gene modification

روش ۲ پلاسمید ← ازهم راحت‌تر است هرچند

میزبان آسیب می‌رسد.

۱- کار کردن با آن راحت‌تر است و هرچند صفت هایی نیست اگر قطعه‌ای از ژن نزدیک شود خود سلول

۲- پلاسمید یک DNA خارج سلولی مستقل است و بدون اینکه DNA تکثیر پیدا کند می‌تواند تکثیر یابد و کپی وارد سلول دیگر مرتاده شود.



وقتی ژن مورد نظر روی پلاسمید است شرایط را مزاحم کرده تا پلاسمید تکثیر یابد و آن را هدر کرده

۳- ما توجه به صفات روی پلاسمید می‌توان از انتقال صفت رد یابی کنیم مثلاً

صفت Fertility factor و Taxin production (مقاومت آنتی بیوتیک) resistance factor

(تولید هری سم و هضم و انتقال به سلول دیگر)

polysaccharide ar

Fuel digestion

مقاومت به آنتی بیوتیک یعنی آنزیم ژن کننده آنتی بیوتیک را دارند

مثلاً ۴ نوع آنتی بیوتیک cio, tet, Amp, pe

پلاسمید گاهی تا ۱۰ آنزیم مقاومت به آنتی بیوتیک را دارند پس با از بین بردن

هیچ ژن مقاوم به آنتی بیوتیک با restriction Anzyme آنتی باکتری

را در محیط کشت که حاوی آنتی بیوتیک است کشت می‌دهم اگر نتوانست رشد کند

یعنی انتقال ژن و اصلاح درست انجام شده است حالا اگر جای آن ژن

ژن نقالین هوردن هم جایگزین شده باشد در محیط کشت دیگر ۳ تا آنتی بیوتیک

دوردن نقالین قرار می‌دهم حالا هم پلاسمید به آنتی بیوتیک ها مقاوم است

هم می‌تواند نقالین را ببرد