مجله پژوهش های معاصر در علوم و تحقیقات
سال سوم، شماره ۲۸، آبان ۱۴۰۰
ISSN: ۲۶۷۶-۵۷۶٤
www.jocrisar.ir

طراحی و ساخت پلیمر قالب مولکولی برای جذب پروتئین نوترکیب هپاتیت ب به منظور ساخت واکسن هپاتیت ب

علیرضا مسعودی [۱]

[۱] دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی قم

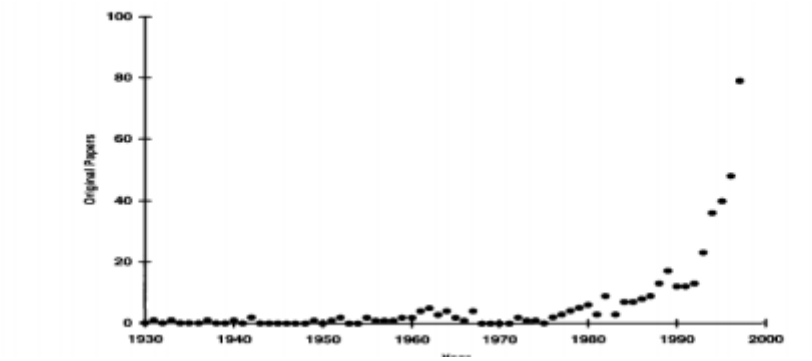
چکیده

در این پژوهش تلاش شده است تا از یک پلیمر قالب مولکولی برای جذب اختصاصی و واجذب پروتئین نوترکیب هپاتیت ب که ماده اولیه ساخت واکسن هپاتیت ب میباشد استفاده شود. اگر چه استفاده از پلیمرهای قالب مولکولی به عنوان جاذب اختصاصی پپتیدها و پروتئین ها از سال ۱۹۹۰ آغاز شده است اما همچنان در مراحل پیشرفت خود به سر می برد. در کارهای صورت گرفته تا کنون از انواع پروتئین با وزن های مولکولی متفاوت استفاده شده است اما در این پژوهش هدف دستیابی به پروتئین خالص با خلوص بیشتر از ۹۰ درصد است. همچنین در طی مراحل کار نبایستی شکل مولکولی پروتئین تغییر پیدا کند زیرا اثربخشی آن به عنوان واکسن منوط به شکل آنتی ژن سطحی است.

واژه‌های کلیدی: پلیمر قالب مولکولی، پروتئین، هپاتیت ب، واکسن

۱. مقدمه

تاریخچه معرفی پلیمر های قالب مولکولی به حدود سالهای ۱۹۳۱ میلادی و استفاده از ماتریکس سیلیکایی به این منظور بر میگردد. اما در سال ۱۹۷۰ از این تکنیک برای اولین بار در پلیمرهای آلی استفاده شد. تئوری به کار رفته برای بیان طبیعت قالب مولکولی انتخابگر توسط قالب سیلیکایی آغاز شد و روش های تهیه آن و تلاشهایی که برای بکارگیری آنها در مقاصد ویژه انجام شد آغازگر مسیر طولانی بعدی بود. اگر چه توجه به این موضوع مربوط به سالهای اخیر است اما دانش پایه ای آن قدیمی است. ما سال ۱۹۷۲ را به عنوان نقطه شروع تکنولوژی قالب مولکولی به گونه ای که امروزه آن را میشناسیم میدانیم یعنی زمانیکه آزمایشگاههای ولف و کلانس به صورت مستقل ساخت این پلیمرها را رسما گزارش کردند. آنها مولکول هدفی که در خلال پلیمریزاسیون استفاده کرده و وارد ساختار پلیمر کرده و در نهایت پلیمر قالب مولکولی راسنتز کردند.[۱-۴] قالبهای مولکولی در حال حاضر توجه بسیاری از جوامع علمی را به خود اختصاص داده است. در دهه ۸۰ میلادی مقالات پایه ای زیادی در این زمینه به چاپ رسیده است. همانگونه که در شکل ۱ نشان داده شده است روند چاپ مقالات در این زمینه رشد زیادی داشته است.



شکل ۱: ر وند رشد چاپ مقالات در زمینه MIP

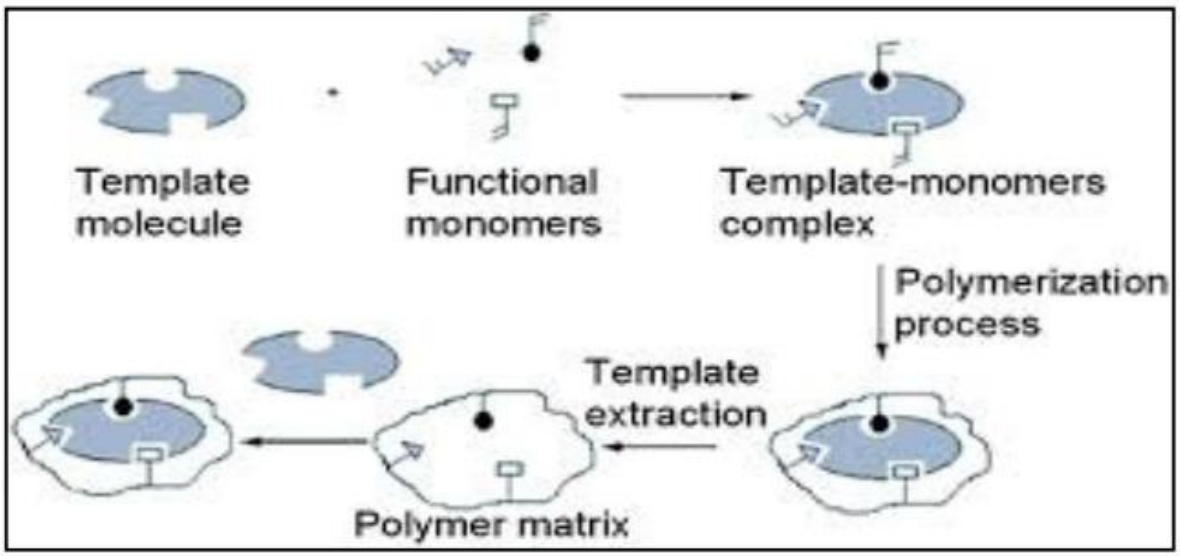
ساخت پلیمرهای قالب مولکولی فرآیندی است برای سنتز موادی که دارای سایت های تشخیص ویژه برای مولکول های ویژه هستند . فرآیند با مولکول هدف مورد نظر (مولکول الگو) شروع می شود. مولکول هدف دو کارکرد دارد. اول، یک مولکول سه بعدی است که اطراف آن می تواند یک حفره درون پلیمر تشکیل شود. دوم، گروههای عاملی روی مولکول الگو می توانند در بسیاری موارد، گروه های عاملی مونومرها را از پیش آرایش دهند. این باعث می شود که مونومرهای عاملی با جهت گیری خاصی که مکمل مولکول الگوست وارد ماتریس پلیمری شوند.[۵-۷]

آرایش مونومرهای عاملی بوسیله مولکول الگو هم با نیروهای کوالانت و هم با نیروهای غیر کوالانت نظیر پیوند هیدروزنی ، الکترواستاتیک و برهمکنش های هیدروفوبی انجام می گیرد. بعلاوه، استفاده از کمپلکس های کئوردیناسیونی بعنوان مولکول الگو یا پیوند عاملی نیز بررسی شده اند.

اصول ساخت پلیمر قالب مولکولی

پدیده اتصال و برهم کنش رخ داده بین مولکول مورد نظر و پلیمرهای قالب مولکولی (MIPs) نظر دانشمندان را برای چندین سال به خود جذب کرده است. کمپلکس تشکیل شده بین یک مولکول میزبان و مولکول مهمان تحت اثر تعداد بسیار زیادی از نیروهای درگیر در واکنشهای شیمیایی است. در سیستم های بیولوژیک این برهم کنش ها اغلب بصورت دینامیک و از نوع غیر کئووالانسی میباشد که منجر به تشکیل محصول بسیار پایدار میشود. قالب زنی مولکولی نسبتا تکنیک جدید و سریعی است که برای ایجاد گیرنده های سنتزی بکار میرود و از جهت تشخیص با سیستم های بیولوژیک طبیعی قابل رقابت است. در ابتدا قالب زنی مولکولی برای ایجاد حفره های ویژه برای شناسایی مواد در پلیمرهای سنتزی استفاده شد.

اساس این تکنیک نسبتا ساده است و شامل ساخت سایت های ویژه برای شناسایی و گاهی اندازه گیری ماده مورد نظر و یا همان مولکول هدف در یک پلیمر سنتزی است. مولکول هدف در داخل منافذ با حفرات خالی ایجاد شده در پلیمر از پیش ساخته شده گیر افتاده و محبوس میشود. پلیمریزاسیون در حضور منومرهای عاملی و اتصال دهنده های عرضی انجام شده و با مولکول هدف برهم کنش انجام میدهد. سپس با حذف مولکول هدف یک ماتریکس پلیمری قالب مولکولی باقی میماند. این مواد تا حد زیادی از نظر حرارتی و شیمیایی پایدارند و ثابت شده است که خواص شناساگر یشان را برای بیش از پنج سال حفظ می کنند. در نتیجه، مزیت هایی بر سیستم های شکننده بیولوژیکی تشخیص مولکولی دارند و از آنها بعنوان " آنتی بادی های پلاستیکی " یاد می شوند. تحت شرایط خاص، MIP ها قابلیت این را نشان داده اند، که بعنوان مواد پیوندی انتخابگر، میکرو راکتورها، غشاءهای تسهیل کننده انتقال و کاتالیست عمل کنند. کاربرد آنها، بهمراه استحکام، MIP ها را کاندیدایی برای کاربرد آنها در علم جداسازی، کاتالیست صنعتی و معاینات پزشکی کرده است. در شکل ۲ مراحل اصلی ساخت یک پلیمر قالب مولکولی نشان داده شده است. [۱۵-۱۱]



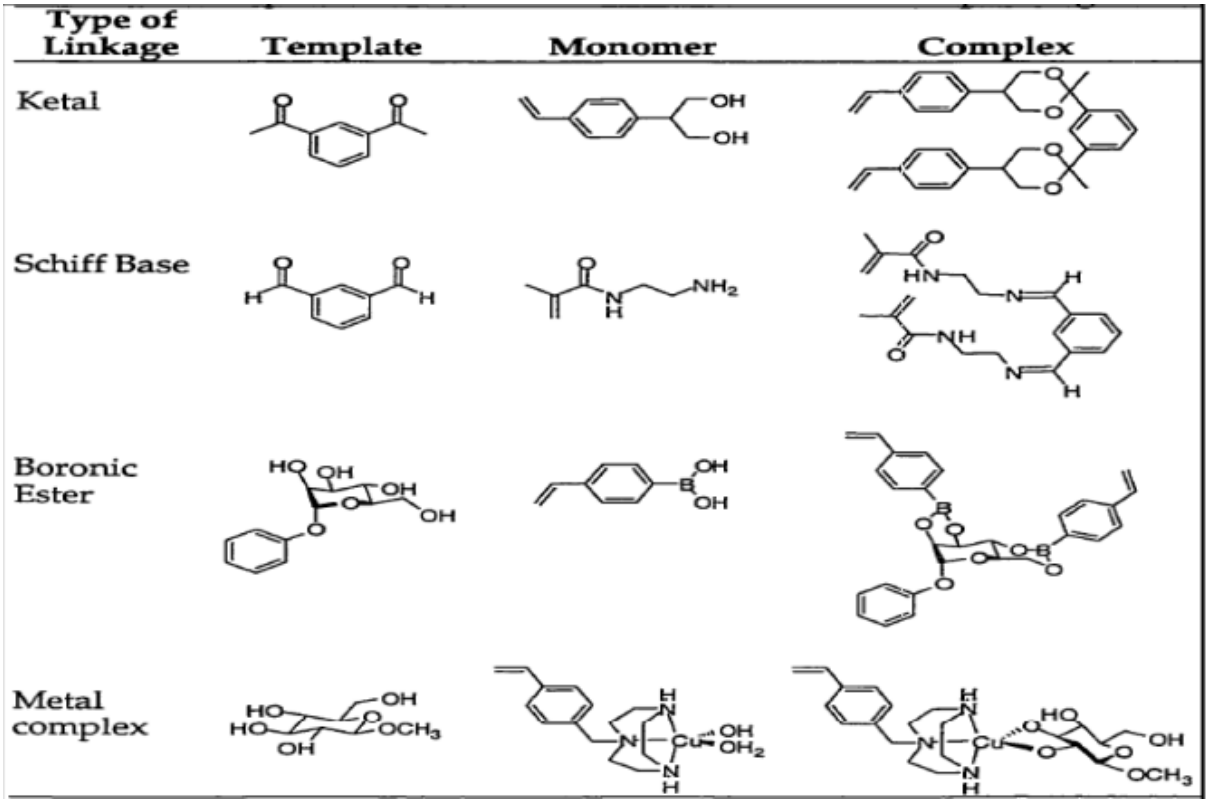
شکل ۲: اساس مراحل ساخت MIPs

امروزه توجه بسیار زیادی بر استفاده از (MIPs) در زمینه بیولوژیک وجود دارد. به عنوان مثال گیرنده های ویژه ای برای غربالگری ترکیبات داروئی جدید به منظور بررسی عملکرد و کارائی داروها یا برای اندازه گیری و شناسائی داروها در محلول های بیولوژیک بدن مانند خون و ادرار و یا حتی برای اندازه گیری مواد مخدر کاربرد دارد. در این راستا حتی (MIPs) با برهم کنش آنتی بادی مونوکلونال و آنتی ژن در تکنیک های ایمونواسی قابل مقایسه است و از سال ۲۰۰۲ کاملا عملیاتی و کاربردی

شده است. (MIPs) وسیله ای بسیار پیشرفته و توسعه یافته در زمینه آنالیز بخصوص به منظور جداسازی و اندازه گیری مواد گوناگون از جمله داروها و مولکولهای فعال بیولوژیکی حتی در ماتریکس خیلی پیچیده میباشد. بعلاوه با پیشرفت دانش سنتز پلیمرها میتوان توقع داشت در زمینه های نوین و جدید نیز از MIPs بتوان کاربردهای بسیاری زیادی را شاهد باشیم.

انواع روشهای ساخت MIPs

تکنیک MIPs روش بسیار مفیدی برای ایجاد سای های تشخیصی در یک پلیمر است. توان تشخیصی به سایز ، شکل و سای های اتصال به مولکول هدف بستگی دارد که البته برهم کنش بین مولکول هدف و گروههای عاملی شبکه پلیمری مهمترین فاکتور است. در نتیجه مونومرهای عاملی در دستیابی به MIP مناسب از اهمیت ویژه ای برخوردار است که در سالهای ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۹ به این موضوع پرداخته شده است.MIP را به سه روش میتوان سنتز کرد.



جدول ۱: معرفی چند پلمیر قالب مولکولی با روش کئووالانسی

روش کووالانسی پیش آرایش چندین مزیت نسبت به روش های غیر کووالانسی دارد، شاید مهمترین آن این باشد که نیازمند هیچ مونومر عاملی اضافی نیست، این باعث می شود که تعداد پیوندهای غیر اختصاصی بین آنالیت و ماتریکس پلیمری به حداقل برسد. یک برهمکنش غیر اختصاصی در این مورد بین آنالیت و سایت پیوندی معین به وجود می آید. علاوه بر این، قالب زنی کووالانسی سایت های پیوندی بخوبی طراحی شده را ایجاد می کنند بنابر این توزیع سایت های پیوندی با تمایلات متغیر به مولکول الگو کم می شود معایب بالقوه این تکنیک شامل مراحل اضافی لازم برای سنتز کمپلکس الگو امونومر و گسست شیمیایی مولکول الگو از پلیمر می باشد. اگر پیوند مجدد که از طریق باز تشکیل پیوندهای کووالانت تشکیل میگردد صورت پذیرد، بایستی سرعت باز پیوند آهسته باشد و برای برخی کاربردها نظیر جداسازی کروماتوگرافی مناسب نیست. پروتوکل کئووالانسی نیازمند تشکیل باندهای کئووالانسی بین مولکول هدف و منومر عاملی در فرایند پلیمریزاسیون است. برای

حذف مولکول هدف از ماتریکس پلیمری پس از سنتز ضروری است که باندهای کووالانسی شکسته شوند. به همین منظور معمولا بایستی پلیمر در یک استخراج سو کسوله رفلاکس شود و یا از مواد شیمیائی ویژه برای شستشو استفاده گردد.

بیوتکنولوژی و کاربرد های آن

بیوتکنولوژی همانند زیست شناسی، ژنتیک یا مهندسی بیوشیمی یک علم پایه یا کاربردی نیست که بتوان محدوده و قلمرو آنرا بسادگی تعریف کرد بیوتکنولوژی شامل حوزه ای مشترک از علوم مختلف است که در اثر همپوشانی و تلاقی این علوم با یکدیگر بوجود آمده است. بیوتکنولوژی معادل زیست شناسی مولکولی، مهندسی ژنتیک، مهندسی شیمی با هیچ یک از علوم سنتی و مدرن موجود نیست؛ بلکه پیوند میان این علوم در جهت تحقق بخشیدن به تولید بهینه یک محصول حیاتی (زیستی) با انجام یک فرآیند زیستی بروشهای نوین و دقیق با کارایی بسیار بالا می باشد.

بیوتکنولوژی را می توان به درختی شبیه کرد که ریشه های تناور آنرا علومی بعضا با قدمت زیاد مانند زیست شناسی بویژه زیست شناسی مولکولی، ژنتیک، میکروبیولوژی، بیوشیمی، ایمونولوژی، شیمی، مهندسی شیمی، مهندسی بیوشیمی، گیاه شناسی، جانورشناسی، داروسازی، کامپیوتر و ... تشکیل می دهند لیکن شاخه های این درخت که کم و بیش به تازگی روئیدن گرفته اند و هر لحظه با رشد خود شاخه های فرعی بیشتری را به وجود می آورند بسیار متعدد و متنوع بوده که فهرست کردن کامل آنها در این نوشته را ناممکن می سازد.

واژه زیست فناوری یا زیست فناوری نخستین بار در سال ۱۹۱۹ از سوی کارل ارکی به مفهوم کاربرد دانش های پزشکی و زیستی و اثر مقابل آن در فناوری های ساخت بشر به کار برده شد. به طور کلی هر گونه کنش هوشمندانه بشر در آفرینش، بهبود و عرضه فراورده های گوناگون با استفاده از جانداران، به ویژه از طریق دستکاری آنها در سطح مولکولی در حیطه این مهم ترین پاک ترین و اقتصادی ترین فناوری سده حاضر؛ زیست فناوری، قرار می گیرد. این دانش از این رو در ایران با نام زیست فناوری شناخته می شود که در سایر نقاط جهان نیز آن را با همین نام می شناسند. زیست فناوری از جمله واژه های پر سر و صدای سال های اخیر است. این واژه را درست یا نادرست به مفهوم همه چیز برای مردم به کار می برند. زیست فناوری را در یک تعریف کلی به کار گیری ارگانیسم یا فرایندهای زیستی در صنایع تولیدی یا خدماتی دانسته اند. تعریف ساده این پدیده نوین عبارت است از دانشی که کاربرد یکپارچه زیست شیمی، میکروب شناسی و فناوری های تولید را در سامانه های زیستی مطالعه می کند. در تعریف دیگر زیست فناوری را چنین تشریح کرده اند: فنونی که از موجودات زنده برای ساخت با تغییر محصولات، ارتقا کیفی گیاهان با حیوانات و تغییر صفات میکروارگانیسم ها برای کاربردهای ویژه استفاده می کند. زیست فناوری به لحاظ ویژگی های ذاتی خود دانشی بین رشته ای است. از دهه ۱۳۶۰ و حدود ۳۰ سال پیش و از زمانی که رشته های ژنتیک و ژنتیک مولکولی در دانشگاه های ایران ایجاد شد و دانشجویانی با این هدف تربیت شدند و تعدادی از دانشجویان به کشورهای خارج اعزام شدند. از این زمان زیست فناوری در ایران اهمیت پیدا کرد و محققان و دانشجویان به رشته های ژنتیک و ژنتیک مولکولی گرایش پیدا کردند. امروزه، اهمیت کاربردی تکنولوژی نوترکیب در زمینه ساخت دارو و واکسن، درمان و تشخیص بیماری ها و نیز بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی و غذایی بیش از پیش آشکار شده است. بر این اساس، اغلب کشورهای جهان برای گسترش و پیشرفت فعالیت های آموزشی و کاربردی خود در این زمینه برنامه ریزی و سیاستگذاری کرده اند. در کشور ما نیز از نزدیک به یک دهه پیش، برنامه هایی مدون تهیه و اجرا شده است که هم اکنون شاهد به بار نشستن برخی از آنها هستیم

تقسیم بندی بیوتکنولوژی به شاخه های مختلف نیز بر حسب دیدگاه متخصصین و دانشمندان مختلف فرق می کند و در رایجترین تقسیم بندی از تلاقی و پیوند علوم مختلف با بیوتکنولوژی استفاده می کنند و نام شاخه ای از بیوتکنولوژی را بدین ترتیب وضع می کنند. مانند بیوتکنولوژی پزشکی که از تلاقی بیوتکنولوژی با علم پزشکی بوجود آمده است با بیوتکنولوژی کشاورزی که کاربرد بیوتکنولوژی در کشاورزی را نشان می دهد. بدین ترتیب می توان از داروئی بیوتکنولوژی میکروبی، ، بیوتکنولوژی دریا ، بیوتکنولوژی قضائی یا پزشکی قانونی ، بیوتکنولوژی محیطی بیوتکنولوژی غذائی بیوانفورماتیک ، بیوتکنولوژی صنعتی ، بیوتکنولوژی نفت ..... بیوتکنولوژی تشخیصی و ... نام برد. این شاخه های متعدد در عمل همپوشانی ها و پیوندهای متقاطع زیادی دارند و باز بدلیل ماهیت همه جانبه بودن بیوتکنولوژی نمی توان در این مورد نیز به ضرس قاطع محدوده هائی را برای آنها تعیین نمود. گستردگی کاربرد بیوتکنولوژی در قرن بیست و یکم بحدی است که، اقتصاد، بهداشت، درمان، محیط زیست، آموزش، کشاورزی، صنعت، تغذیه و سایر جنبه های زندگی بشر را تحت تأثیر شگرفت خود قرار خواهد داد. بهمین دلیل اندیشمندان جهان قرن بیست و یکم را قرن بیوتکنولوژی نامگذاری کرده اند[۱۶-۲۰].

هپاتیت ب و واکسن نوترکیب هپاتیت ب

هپاتیت، بیماری ویروسی است که کبد را دچار مشکل جدی می کند و می تواند آن را از بین ببرد. از بین هپاتیت هایی که تابحال به نام های A، B، C، D، E و غیره شناخته شده اند، سه نوع اول برای کشور ما مشکلات زیادی را ایجاد کرده اند. بعضی از انواع هپاتیت ها مثل نوع E از طریق مواد غذایی آلوده منتقل می شوند و عوارض آن همانند یرقان است. این نوع بعد از مدتی خود به خود درمان می شود؛ هر چند واکنش افراد به این نوع هپاتیت مختلف است (بعضی از افراد زردی سختی نشان می دهند که نیازمند درمان می باشد ولی خوشبختانه کبد را از بین نمی برد). اما وقتی به هپاتیت ب می رسیم عارضه بیشتر است. این بیماری از طریق خون و تزریقات انتقال پیدا می کند و عوارض آن شدیدتر است و اگر درمان نشود کبد را دچار مشکل می کند، حتی ممکن است به سرطان کبد هم برسد. در کشور ما تزریق واکسن نوترکیب هپاتیت ب، در برنامه ملی ایمنی سازی اطفال قرار گرفته است. اما چون افراد بالغ این واکسن را دریافت نمی کنند خطر ابتلاء از بزرگسالان به دیگران وجود دارد. در معتادان و زندانی ها و کسانی که به طور مکرر خون دریافت می کنند، مانند هموفیلی ها، تالاسمی ها و غیره این بیماری شیوع بیشتری دارد. هم اکنون سازمان انتقال خون تمام خون ها را روی سه ویروس بطور دائم چک می کند. یعنی اگر کسی به انتقال خون برود برگه ای برای او پست می شود که وضعیت او را نسبت به بیماری های هپاتیت B و C و ایدز مشخص می نماید. مشکل عمده در مورد هپاتیت ب این است که اگر فردی به صورت مزمن گرفتار این بیماری شود علائم بارزی از خود نشان نمی دهد. این گونه افراد علی رغم ظاهر سالم، ناقل بیماری می باشند و ترشحات بدن آنها ویروس دفع می نماید. عفونت با ویروس هپاتیت ب یکی از بزرگترین مشکلات بهداشتی جهان و کشور ما می باشد. با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی حدود ۳۷٪ مردم جهان به این ویروس آلوده شده اند و بیش از ۲ میلیارد نفر شواهدی از عفونت قبلی یا کنونی با این ویروس را دارند و حدود ۴۰۰ میلیون نفر به هپاتیت مزمن مبتلا و ناقل این ویروس هستند. تخمین زده می شود که سالانه حدود ۲ میلیون نفر بدلیل این بیماری فوت میکنند. سه چهارم جمعیت جهان در مناطقی که دارای سطح بالایی از عفونت هستند ، زندگی می کنند. عفونت معمولا در سنین اولیه کودکی اتفاق می افتد که بدون علامت است و اغلب به سمت مزمن شده پیش می رود .

ویروس هپاتیت ب عامل ۶۰٪ تا ۸۰٪ سرطان اولیه کبدی است و این عامل سرطانزا ، به عنوان دومین عامل خطر ناک بعد از سیگار در جهان مطرح است. سرطان اولیه کبد یکی از سه علت مرگ در اثر سرطان در مردان در شرق و جنوب شرقی آسیا ، حوزه پاسیفیک و مرکز آفریقا می باشد .حدود ۳٪ جمعیت ایران حامل ویروس هپاتیت ب هستند و حدود ۳۵-۳۰٪ افراد

شواهد ابتلای به ویروس را از طریق آزمایشات سرولوژیک نشان می دهند که از آن میان ۱۵٪ دچار هپاتیت مزمن و مستعد ابتلا به سیروز هستند حدود ۱۰-۸ هزار نفر در نتیجه و علل مرتبط با هپاتیت ب فوت می کنند.

با توجه به سن ابتلا به بیماری میزان مزمن شدن متفاوت است که متاسفانه در صورت ابتلا در دوره کودکی میزان مزمن شده بسیار بالا می باشد . از آنجا که درمان هپاتیت ویروسی توسط دار و امکان پذیر نمی باشد ، پیشگیری این بیماری توسط واکسنی مفید و موثر ، از اهمیت خاصی برخوردار است . هپاتیت ویروسی هنوز هم از زمره معضلات عمده بهداشتی در سراسر جهان به شمار می رود. عامل این بیماری برخی از اعضاء خانواده ویروس هپاتیت A،B و C می باشد که اختصاصا" عفونت ویروسی مرگ باری را در انسان ایجاد می نمایند . البته در بین این گروه ها، ویروس هپاتیت ب مهمترین عامل عفونی است. معمولا" عفونت هپاتیت ویروسی بصورت حاد و مزمن ایجاد می شود . نوع مزمن آن غالبا" بدون علائم کلینیکی ظاهر می شود ، که در نهایت منجر به ایجاد ناقلین مزمن هپاتیت ب خواهد گشت. این ویروس از طریق وسایل آلوده پزشکی ، دندان پزشکی ، انتقال خون آلوده و تماس جنسی ناقلین ، به اشخاص سالم منتقل می شود. بعلاوه زنان آلوده باردار می توانند از طریق جفت و یا زایمان ویروس را به نوزاد منتقل نمایند. البته شدت و یا کاهش علائم بالینی این بیماری بستگی بسیار زیادی به سیستم ایمنی افراد سالم دارد.

بر اساس گزارشات علمی متعدد هپاتیت ب باعث سرطان کبد می شود. کمتر از ۱۰ درصد بزرگسالان بیماری را به شکل مزمن نشان می دهند، در حالی که این رقم در کودکانی که در حین تولد آلوده شده اند به ۹۰ درصد و در نوجوانان به ۲۰ تا ۳۰ درصد می رسد . خطر ابتلا به ویروس در بزرگسالان بستگی به سلامت دستگاه ایمنی دارد . برای مثال افرادی که دستگاه ایمنی آنها به دلایلی مانند پیوند عضو ، دیالیز و مشکلات کلیوی ، شیمی درمانی و ایدز تضعیف شده است ، بیشتر از افراد سالم مبتلا می شوند. گزارشات نشان داده است که ۹۰ درصد افراد مبتلا به ایدز به هپاتیت آلوده شده اند و از این تعداد ۱۵ درصد، آن را به شکل مزمن نشان می دهند.

از آنجا که درمان هپاتیت ویروسی توسط دار و امکان پذیر نمی باشد ، پیشگیری این بیماری توسط واکسنی مفید و موثر ، از اهمیت خاصی برخوردار است . آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت"، به طور طبیعی شامل پروتئین ، گلیکوپروتئین و لیپید است . پروتئین سطحی این ویروس از شش پلی پپتید تشکیل شده است که خواص ایمونوژنتیکی و آنتی ژنیک ویروس را بعهده دارند. در سال ۱۹۸۲ اولین واکسن که از سازمان بهداشت جهانی مجوز مصرف دریافت نمود ، واکسن هپاتیت ب مشتق شده از ذرات آنتی ژن سطحی ویروس استخراج شده از پلاسمای ناقلین مزمن بود. این واکسن از دو پلی پپتید تشکیل شده بود که توسط کمپانی مرک - شارپ و درهام به بازار آمد. کمبود پلاسمای ناقلین و مشکلات خالص سازی آنتی ژن سطحی از پلاسما باعث شد این واکسن را از طریق تکنولوژی DNA نوترکیب تولید کنند. واکسن هپاتیت ب تولید شده در مخمر فقط پلی پپتید خالص است اما از نقطه نظر تحریک سیستم ایمنی کاملا مشابه واکسن پلاسمائی بود. ضمنا" واکسن تولید شده از طریق DNA نوترکیب در سلول پستانداران نیز مفید و موثر است و در فرانسه مجوز تولید گرفت اما مشکلات خالص سازی و رشد کم سبب گردید تا در سراسر جهان مصرف واکسن هپاتیت ب تولید شده در مخمر رایج گردد. البته برخی از محققین سعی نمودند واکسن را از طریق پلاسمید در اشریشیاکولی (E.coli) نیز تولید نمایند اما این باکتری توان ایجاد ذرات پروتئینی با این ابعاد را نداشت . [۲۰-۲۶]

نتیجه‌گیری

با توجه به ماهیت پروتئین ها امکان استفاده از بسیاری از حلال ها از جمله حلال های آلی وجود ندارد. از آنجا که هدف از ساخت این پلیمر قالب مولکولی میتواند هم شناسایی و هم تخلیص پروتئین هپاتیت ب باشد و با توجه به اینکه برای شناسایی این پروتئین روشهای بسیار حساس و دقیقی مانند الیزا بر اساس واکنشهای آنتی بادی - آنتی ژن وجود دارد تصمیم گرفته شد تا از این پلیمر طراحی و ساخته شده برای افزایش درجه خلوص پروتئین هپاتیت ب استفاده شود. در مراحل تخلیص این پروتئین هدف رسیدن به درجه خلوص ضرورتا بیش از ۹۰ درصد است. در حال حاضر این امر مهم با استفاده از ستون ایمونو افینیتی امکان پذیر است اما این ستون وار دادتی است و از قیمت بسیار بالایی نیز برخوردار است .تا کنون در این پژوهش دستیابی به خلوص ۸۳,۷ امکان پذیر شده است و میتوان از این تکنیک قبل از ستون ایمونوافینیتی به منظور کاهش بار ورودی به این ستون استفاده کرد. امید است در آینده ای نه چندان دور بتوان این شرایط را بهبود بخشید و آن را در مقیاس صنعتی کاملا کاربردی نمود.

مراجع

[1] "Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer" *Int. J. Mol. Sci.* 2006, 7, 155–178

[2] imprinting: recent developments and the road ahead Peter A.G. Cormack,Klaus Mosbach ,1 Reactive and -2 Molecular Functional Polymers**,**Volume 41, Issues 1– , 3 15 July 1999, Pages 115–124

[3] G. Wulff , Angew. Chem. Int. Ed. Engl, 1995, 34,1812-1832.

[4] K. Mosbach, K/ Haupt, X. C. Liu, P. A. G. Cormack and O. Ramstrm, ACS,Symposium Series 703,ACS,Washington, DC, 1998, 29-48

[5] Molecular imprinting,Mosbach K.,trend biochemical science.1994,9-14

[6] MOLECULAR IMPRINTING,K MOSBACH, E YILMAZ, K HAUPT,WO Patent 2,001,090,228

[7] MOLECULAR IMPRINTING,K Mosbach, E Yilmaz, K Haupt,EP Patent 1,292,637

[8] The emerging technique of molecular imprinting and its future impact on biotechnology Klaus Mosbach, Olof Ramström,1996,Nature iotechnology,Volume14,Issue2,Pages,163-170

[9] Molecularly imprinted polymers: useful materials for analytical chemistry? AG Mayes, K Mosbach,TrAC Trends in Analytical Chemistry 16 (6), 321-332

[10] Spivac,D.,Gilmore,M.A.,Shea,U,J. j .Am.Chem.Soc.,1997,119,4388-4393

[11] New configurations and applications of molecularly imprinted polymers**,**Oliver Brüggemann,Karsten Haupt,

[12] Molecular imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular templates-a way towards artificial antibodies, G. Wulff,Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 34 (1995), pp. 1812–1832

[13] 17-Tao Zhanga, Yu-Kui Zhangb, Journal of Chromatography A,Volume 1218, Issue 22, 3 June 2011, Pages 3489–3495

[14] 20-A facile method for preparing molecularly imprinted polymer spheres using spherical silica templates,J. Mater. Chem., 12 (2002), pp. 1577–1581,M.E. Byrne,

[15] Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer" *Int. J. Mol. Sci.* 2006, 7, 155–178
[16] Covalent imprinted polymer for selective and rapid enrichment of ractopamine by a noncovalent approach.Tang YW1, Fang GZ, Wang S, Li JLAnal Bioanal Chem. 2011 Oct;401(7):2275-82

[17] Ermak G., Modern Science & Future Medicine (second edition), 164 p., 2013
[18] U.S. Department of State International Information Programs, "Frequently Asked Questions About
Biotechnology", USIS Online; available from USinfo.state.gov, accessed 13 September 2007. Cf. Feldbaum, C. (February 2002).

[19] Recombinant hepatitis B vaccine (Engerix-B): a review of its immunogenicity and protective efficacy against hepatitis B.Keating GM1, Noble S. Drugs. 2003;63(10):1021-51.
[20] Hepatitis B Vaccine from Merck". Retrieved 2010-05-09
[21] Hepatitis B Vaccine". Doylestown, Pennsylvania: Hepatitis B Foundation. 2009-01-31. Retrieved 2009-10-22.

[22] Roome, A. J.; Walsh, S.; Cartter, M.; Hadler, J. (1993). "Hepatitis B vaccine responsiveness in Connecticut public safety personnel". *Journal of the American Medical Association* **270** (24): 2931–2934. doi:10.1001/jama.270.24.2931. PMID 8254852.
[23] Rosman, Md, A.; Basu, P.; Galvin, K.; Lieber, C. (1997). "Efficacy of a High and Accelerated Dose of Hepatitis B Vaccine in Alcoholic Patients a Randomized Clinical Trial". *The American Journal of Medicine* **103** (3): 217–222. doi:10.1016/S0002- 9343(97)00132-
[24] Pauling L, Corey RB, Branson HR (1951). "The structure of proteins; two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain". *Proc Natl Acad Sci USA* **37** (4): 205–211
[25] Murzin, A. G.; Brenner, S.; Hubbard, T.; Chothia, C. (1995). "SCOP: A structural classification of proteins database for the investigation of sequences and structures". *Journal of Molecular Biology* **247**
(4): 536–540

[26] Zhang Y (2008). "Progress and challenges in protein structure prediction". *Curr Opin Struct Biol* **18**