

Biyoayırma ve Polimerik Taşıyıcılar

Prof. Dr. Adil DENİZLİ

*TÜBA Asli Üyesi,
Hacettepe Üniversitesi
Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi*



TÜRKİYE BİLİMLER AKADEMİSİ

TÜRKİYE BİLİMLER AKADEMİSİ FORUMU

Sıra No: 64

Biyoayırma ve Polimerik Taşıyıcılar

Prof. Dr. Adil DENİZLİ

© Türkiye Bilimler Akademisi, 2011.

Bu kitabın tüm yayın hakları saklıdır. Tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz, CD ya da manyetik bant haline getirilemez.

Türkiye Bilimler Akademisi Forumu Dizisi kapsamında hazırlanan bu kitapta yer alan değerlendirme ve görüşler yazara aittir.

Birinci Basım: Mart 2011 (750 adet)

YENİ REFORM Matbaacılık-Ankara. Tel: 0.312. 341 20 92

Denizli, Adil

Biyoayırma ve polimerik taşıyıcılar / Adil Denizli. Ankara : TÜBA, 2011.
86 s. : res. , grf. ; 20 sm. (TÜBA Akademi Forumu 64)

ISBN: 978-9944-252-44-7

1. Biyokimya. II. Dizi
574.192

Türkiye Bilimler Akademisi
Piyade Sok. No: 27, 06690 Çankaya - Ankara
Tel: 0.312. 442 29 03 Faks: 0.312. 442 23 58
e-posta: tuba@tuba.gov.tr

Akademi Forumu

Türkiye Bilimler Akademisi, devlet ve toplumla ilgili, yasayla belirlenmiş bağımsız ve yetkin danışmanlık görevi kapsamında, bilimsel ve toplumsal konularda özgür ve eleştirel bir tartışma platformu ve kültürü oluşturmaya, bunun için toplantılar düzenlemeye ve yayınlar yapmaya çaba göstermektedir.

Akademi Konferansları Programı, bu görev doğrultusunda tüm akademik dallarda önemli bilimsel gelişmelerin, geniş bir dinleyici kitlesini hedef alarak kamuya mal edilmesini; diğer yandan, ülke gündemindeki çeşitli sorunların bilimsel bir yaklaşımla ele alındığı, özgün katkılar içeren, farklı ve tartışmaya açık görüşlerin sunulduğu kurumsal bir platform oluşturulmasını hedeflemektedir.

Bilim, düşün, sanat ve siyaset alanlarında öne çıkmış temsilcilerin Akademi Konferansları Programı kapsamında yaptıkları konuşmalar, ülkemizde bilim ve tartışma kültürünün gelişmesine daha yaygın bir biçimde katkıda bulunmak amacıyla Akademi Forumu Dizisi çerçevesinde yayımlanmaktadır. Bu yayın dizisi aynı zamanda, gelecek kuşaklar için günümüz Türkiye'sinde bilim ve kültür yaşamının bir seyir defteri niteliğini taşıyacaktır.

İÇİNDEKİLER

Sunu	7
Özet.	9
1. Biyoayırma	9
2. Afinite Kromatografisi	11
2.1. Matris Seçimi	14
2.2. Ligand Seçimi	15
2.2.1. Grup Seçici Ligandlar	18
2.2.2. Biyoseçici Ligandlar	19
2.3. Uzatıcı Kollar.	20
2.4. Aktivasyon Yöntemleri	21
2.5. Desorpsiyon İşlemi.	24
2.6. Rejenerasyon	25
3. Afinite Kromatografisinde Kullanılan	
Polimerik Taşıyıcılar	26
3.1. Yapılarına Göre Polimerik Taşıyıcılar	26
3.2. Geometrik Şekillerine Göre Polimerik	
Taşıyıcılar	32
3.2.1. Polimerik Mikroküreler.	32
3.2.2. Polimerik Membranlar	34
3.2.3. Monolitler	37
3.2.4. Kriyojeller	43
4. Afinite Kromatografisi ve Moleküler	
Baskılama Yöntemi	46
5. Afinite Kromatografisinin Tedavi Amaçlı	
Uygulamaları	48

5.1. Hemoperfüzyon	48
5.1.1. Hiperbilirubinemi Tedavisi	50
5.1.2. Talasemi Tedavisi.	54
5.1.3. Romatoid Artrit Tedavisi	56
5.1.4. Sistemik Lupus Erythematosus (SLE) Tedavisi	58
5.1.5. Hiperkolesterolemi Tedavisi	60
6. Sonuç.	63
7. Kaynaklar	64
Prof. Dr. Adil Denizli'nin Özgeçmişi	72

SUNU

Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve TÜBA Asli Üyesi Prof. Dr. Adil Denizli, 19 Kasım 2009 günü, Ankara'da Türkiye Bilimler Akademisi'nin Akademi Konferansları programı kapsamında "Biyoyayırma ve Polimerik Taşıyıcılar" başlıklı bir konferans vermiştir.

Proteinler, enzimler, hormonlar, vb. gibi biyomoleküllerin bir yandan artan talepler doğrultusunda sentetik olarak büyük ölçeklerde endüstriyel üretimleri zorunlu hale gelirken, aynı zamanda sağlık alanında kullanımları nedeniyle yoğun bir saflıkta olmaları da zorunlu hale gelmiştir. Diğer taraftan, bir dizi biyomolekülleri ortamdan ayırma ve saflaştırma işlemleri sırasında biyolojik aktivitelerinin nitelik ve nicelik açısından da korunmaları ihtiyacı, biyoyayırma süreçlerini çok karmaşık hale getirmektedir.

Prof. Denizli, 1950'li yıllarda geliştirilen ve büyük miktarlarda proteinlerin saflaştırılmasını mümkün kılan yöntemlerden başlayarak biyoyayırma yöntemlerindeki gelişmeleri anlatmış, bir çeyrek asrı kapsayan bir zaman süresince ulaşılan "afinite kromatografisi" tekniğinin ana hatlarını özetlemiştir. Afinite kromatografisinde kullanılan taşıyıcı ve ligand seçimlerinin önemi, polimerik taşıyıcılar ve moleküler baskılama yöntemi hakkında bilgiler sunduğu konuşmasının son kısmında bu kromatografik tekniğin tedavi amaçlı uygulamalarını anlatmış ve ileriye dönük umut verici gelişmelerle konferansını sonlandırmıştır.

Önemli bir konuda bizlere aydınlatıcı bilgiler aktararak beynimizi besleyen, pratiğimize yön veren konferansı için Prof. Dr. Adil Denizli'ye TÜBA adına teşekkürlerimizi sunarım.

Saygılarımla,

Prof. Dr. Yücel KANPOLAT
Akademi Başkanı

BİYOAYIRMA VE POLİMERİK TAŞIYICILAR

ÖZET

Biyolojik moleküllerin saflaştırılması, yapısal ve işlevsel özelliklerinin ve dolayısıyla hücre ve doku içerisindeki rollerinin anlaşılması veya belirli uygulamalarda kullanılmaları için çok gerekli bir işlemdir. Hücre biyolojisi, immünoloji, genetik ve proteomik alanlarındaki ilerlemelere paralel olarak ayırma teknolojilerindeki önemli gelişmeler, yaşam bilimleri üzerine bilgilerimizin artmasında çok önemli rol oynamıştır. Proteinlerin saflaştırılması için geliştirilen çeşitli kromatografik yöntemlerin başarısı büyük oranda taşıyıcı matrikse bağlanan afinite ligand ile saflaştırılacak molekül arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Bu temele göre seçilen afinite ligand, çeşitli yapı ve geometrik özelliklere sahip destek malzemelerine bağlanarak ilgilenilen biyolojik molekülün saflaştırılması sağlanmaktadır. Bu kitapta afinite kromatografisi için kullanılan çeşitli afinite ligandlar, bu ligandların taşıyıcı polimerik destek malzemesine bağlanmasında takip edilen yöntemler ve kullanılan polimerik taşıyıcılar özetlenmiştir.

1. BİYOAYIRMA

Son yıllarda biyoteknoloji, biyokimya, tıp ve eczacılık alanındaki gelişmeler, özellikle proteomiks ve genetik mühendisliğinde sağlanan ilerlemeler, biyomoleküllerin (enzimler, proteinler,

hormonlar, nükleik asitler, vb.) sentetik ortamlarda büyük kapasitelerle endüstriyel üretimini gündeme getirmiştir [1]. Modern biyoteknolojik yöntemlerle üretilen veya biyolojik ortamlarından (kan, vücut sıvısı, vb.) ayrılarak elde edilen biyomoleküllerin çoğu, sağlıkla ilgili alanlarda kullanıldığından çok saf olmaları gerekir [2]. Bu da doğal olarak araştırmacıların ve endüstrinin biyomoleküllerin ayrılma ve saflaştırılma yöntemleriyle daha yoğun bir şekilde ilgilenmelerine yol açmıştır [3-4]. Biyomoleküllerin saflaştırılmasında ürün saflığının yanı sıra üzerinde durulması gereken en önemli husus, şüphesiz ürünün biyolojik aktivitesini uygulanan işlemlerle kaybetmemesidir. Ürünün çok saf olması ve biyolojik aktivitesinin korunması zorunluluklarına ilave olarak biyomolekülün oldukça karmaşık bir ortamdan ayrılması, biyomolekül saflaştırılmasında kullanılacak yöntemleri ve koşulları kısıtlamaktadır [5]. Endüstriyel veya laboratuvar boyutlarındaki protein saflaştırılma yaklaşımlarında, birden fazla ayırma sürecinin art arda, beraberce kullanıldığı not edilmelidir. Günümüzde en yaygın kullanılan ayırma yöntemleri ve dayandıkları temeller Çizelge 1'de verilmiştir.

Kromatografik yöntemler protein saflaştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Zengin polimerik taşıyıcı çeşitliliği ve birçok proteini ayırma imkânı gibi özellikler kromatografik yöntemleri popüler yapan ve geniş kullanımına imkân tanıyan en önemli unsurlardır. Jel filtrasyonu, iyon değişimi ve hidroksiapatit kromatografisi 1950'li ve 60'lı yıllarda kullanılan ilk kromatografik yöntemlerdir [6]. Bu yöntemler büyük miktarda proteinlerin saflaştırılmasını mümkün hale getirmiş, sonuç olarak bu dönemde protein saflaştırılması üzerine araştırmalar büyük oranda yaygınlaşmıştır. 1970'li yılların başında siyanojen bromür (CNBr) aktivasyon tekniğinin geliştirilmesinden sonra biyoyayırma yöntemleri arasında özellikle "afinite kromatografisi" hızla kullanılmaya başlanmış ve kısa zamanda çok ilginç uygulama alanları bulmuştur [7]. Afinite kromatografisinde genellikle seçici tanıma yeteneğine sahip ligandların takılı olduğu taşıyıcılar

(adsorbentler) kullanılır. Afinite kromatografisinin geliştirildiği ilk yıllarda, diğer ayırma yöntemlerinin devre dışı kalacağı düşünülmüştür [8]. Ancak, yöntemin proses-ölçeğinde kullanımını engelleyen ve ilk etapta görülmeyen bazı sorunlar ortaya çıkmıştır [9]. Bu sorunlar arasında biyolojik ligandların pahalılığı, kararlılıklarındaki olumsuzluklar ve immobilizasyon sonrasındaki aktivite kayıpları, ligand sızıntısı ve düşük bağlanma kapasitesi sayılabilir. Sorunlara çözüm olarak bazı araştırmacılar nükleotid ve immobilize koenzim bazlı grup-seçici taşıyıcıların geliştirilmesine çalışmışlardır [10]. Bunun bir sonucu olarak, sentetik ligand taşıyan adsorbanlara duyulan ilgi, biyoseçici afinite özelliğinden daha ziyade pratik olmaları gerekçesiyle artmıştır.

Çizelge 1. Ayırma yöntemleri.

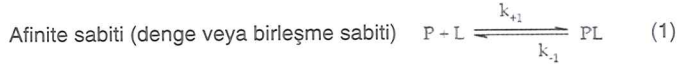
Temel	Yaygın Örnekler
Boyut	Filtreler, Membranlar, Partiküller, Jeller
Yoğunluk	Sedimentasyon, Santrifüjleme, Yüzdürme
Yük	İyon Değişim Reçineleri Elektrokinetik Sistemler
Biyoseçici Afinite	Ligand ile Biyomoleküllerin Etkileşimi

2. AFİNİTE KROMATOĞRAFİSİ

Afinite kromatografisi biyolojik olarak aktif maddelerin komplementer bileşenlerini çok seçici ve tersinir olarak bağlama yeteneklerine dayalı bir çeşit adsorpsiyon kromatografisidir [6]. Geleneksel yöntemlerden farklı olarak, bu yöntemde biyolojik moleküller çok seçici olarak biyolojik tanıma özelliğine sahip taşıyıcılar kullanılarak saflaştırılır. Enzimlerin inhibitörleri, substratları, kofaktörleri veya efektörleri ile antibadilerin antijen

veya haptelerle, lektinlerin karbonhidratlarla, nükleik asitlerin nükleotidlerle, hormon ve toksinlerin reseptörlerle, taşıyıcı proteinlerin vitaminler ve şekerlerle oluşturdıkları kompleksleri afinite kromatografisine örnek olarak gösterilebilir.

Kısaca, "sorbent" olarak adlandırılan taşıyıcı seçici olmayan etkileşimleri (elektrostatik, hidrofobik, vb.) minimuma indirilmiş, başka bir ifadeyle inert bir malzemeden (genellikle polimerik temelli) üretilmiştir. Taşıyıcı matrikse ayrılması istenen biyolojik molekülleri (protein, enzim, hormon vb.) seçici olarak tanıyan (adsorplayan) "ligand" adı verilen maddeler takılır. Protein karışımında bir proteinin ligand takılı taşıyıcı için afinitesi olduğu varsayılırsa, afinite ligandı (L) ile adsorplanan protein (P) arasında aşağıdaki eşitlikle gösterilen kimyasal denge kurulur. Ligand ile ona bağlanan protein arasındaki ilişki tersinirdir.



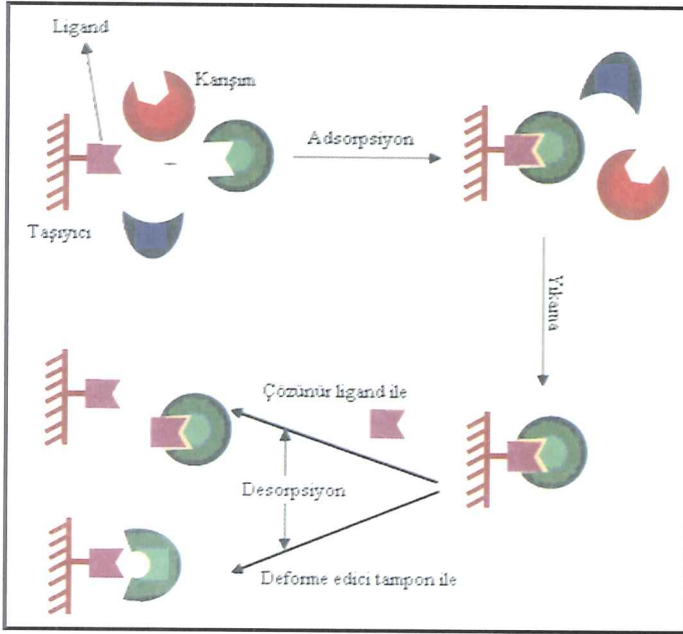
$$K_A = \frac{[PL]}{[P][L]} \quad (\text{örn. } 10^{-5} \text{ M}) \quad (2)$$

Ayrışma sabiti;

$$K_L = 1/K_A = \frac{[P][L]}{[PL]} \quad (\text{örn. } 10^5 \text{ M}) \quad (3)$$

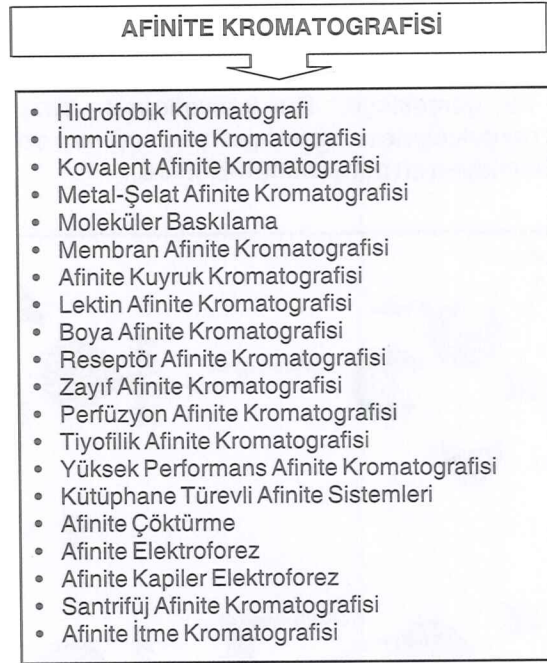
Ligandın kovalent olarak bağlandığı taşıyıcı, kromatografik kolonda sabit faz olarak kullanılır. Afinite kromatografisinin şematik gösterimi Şekil 1'de verilmiştir. Ayrılacak olan biyomolekülü içeren ham karışım kolondan geçirilir, afinite ligandı ile seçici etkileşime girecek uygun grupları bulunmayan moleküller kolondan alıkonmadan çıkarlar, afinitesi olanlar ise kolonda adsorplanırlar. Daha sonra adsorplanan protein ortam koşulları değiştirilerek (pH, iyonik şiddet, sıcaklık veya üre, guanidin klorür gibi desorbe edici ajanların ilavesi ile) veya ligandın kendi çözeltisi kullanılarak kolondan ayrılırlar. Ligand ile

saflaştırılan biyomolekül arasında kompleks oluşumu iyonik etkileşim, hidrofobik kuvvetler, London dağılıma kuvveti, dipol-dipol etkileşimi veya yük-aktarım etkileşimleri gibi genel moleküler kuvvetler ile gerçekleşir. Bu kuvvetlerden birkaçının aynı zamanda gerçekleşmesi ligand-protein bağının seçiciliğini ve etkinliğini belirleyen en temel etmendir [6-10].



Şekil 1. Afinité kromatografisinin şematik gösterimi.

Afinite kromatografisinin farklı yaklaşımlarla türevlendirilmesiyle değişik afinité uygulamaları ortaya çıkmıştır. Bu yöntemlerin çoğu kendine özgü bilimsel isimleriyle kabul edilmektedir. Bu yöntemlerin önemli bir bölümü Şekil 2'de verilmiştir [11-19].



Şekil 2. Afinite kromatografisinin dalları.

2.1. Matriks Seçimi

Afinite kromatografisinin hızlı gelişmesi ve yaygın kullanımındaki en önemli etmenlerden birisi de istenilen özelliklere sahip taşıyıcıların geliştirilmesi olmuştur. Taşıyıcının doğru seçilmesi, taşıyıcı ve afinite ligandı arasındaki kovalent bağ kromatografik ayırmanın belki de en önemli basamağını oluşturmaktadır. Taşıyıcı immobilize ligand ve afinite gösterdiği biyomolekülün kararlılığı üzerine de önemli etkiye sahiptir. Katı destek, bazı durumlarda ligand moleküllerini içeren doğal ortamın kendisi de olabilir (örneğin, lektinlerin saflaştırılması için polisakkaritlerin taşıyıcı olarak kullanılması gibi). Çok sayıda farklı türde taşıyıcı ticari olarak piyasada mevcuttur (Çizelge 2).

Taşıyıcı aşağıda belirtilen özelliklere sahip olmalıdır:

- Çözünmemelidir.
- Uygun geçirgenliğe ve büyük iç yüzey alanına sahip olmalıdır.
- Yüksek sertliğe ve uygun partikül şekline sahip olmalıdır.
- Seçici olmayan adsorpsiyon miktarı düşük olmalıdır.
- Afinite ligandının yapıya takılabilmesi için fonksiyonel gruplar içermelidir.
- Ligand immobilizasyonu, adsorpsiyon, desorpsiyon ve rejenerasyon koşullarında kimyasal olarak kararlı olmalıdır.
- Mikrobiyal ve enzimatik ataklara karşı dayanıklı olmalıdır.
- Hidrofilik karakterde olmalıdır.

2.2. Ligand Seçimi

Afinite kromatografisinde kullanılacak bir ligandın iki önemli özelliği taşıması gerekir.

- Saflaştırılacak protein ile seçici ve tersinir bir kompleks oluşturmalıdır.
- Taşıyıcıya bağlanmasını sağlayacak fonksiyonel gruplar içermelidir.

Bu iki koşulu sağlayan çok sayıda ligand mevcuttur. Afinite kromatografisi ilkelerinin pratiğe uygulanmasında kullanılabilecek büyük çeşitlilik, yöntemin etkinliğini belirler. Bu etkinliği sağlayan faktörler şunlardır:

- İstenilen amaca göre kullanılabilecek ligandların çeşitliliği,
- Grup-seçici ligandların kullanımı,
- Bir proteinin saflaştırılması için kullanılabilecek ligandların çeşitliliği.

Çizelge 2. Ticari olarak üretilen afinite taşıyıcıları.

Ticari ismi	Malzeme	Partikül Çapı (µm)	Mevcut Ligandlara Örnekler	Aktive Edilmiş Formu Var mı?	Üretici
Sepharose HP	Agaroz	34	Protein A, heparin, Cibacron Blue	Evet	Amersham Biosciences
Sepharose FF	Agaroz	90	Protein A, heparin, Cibacron Blue	Evet	Amersham Biosciences
Mimetic series	Agaroz	105	Senteitik ligandlar	Hayır	Prometic Biosci/ACL
Affi-Gel	Agaroz	150-300	Protein A, heparin, Cibacron Blue	Evet	Bio-Rad Laboratories
Sepharose Big Beads	Agaroz	200	IMAC	Hayır	Amersham Biosciences
Cellthru Big Beads	Agaroz	400	Cibacron Blue, heparin, IMAC	Evet	Sterogene
TSK-Gel	Polimetakrilat	10	Boronat, IMAC, heparin	Evet	TosoHaas/Supelco
Affi-Prep	Polimetakrilat	10-50	Protein A, polymyxin	Hayır	Bio-Rad Laboratories
SigmaChrom AF	Polimetakrilat	20	Protein A, IMAC, Cibacron Blue	Hayır	Supelco
Fractogel	Polimetakrilat	30-65	IMAC, heparin	Evet	Merck
ProteinPak	Silika	40	Yok	Evet	Waters
Bakerbond	Silika	40	Yok	Evet	J.T. Baker
Trisacryl	Poliakrilamid	60-200	Cibacron Blue, Basiline Blue	Hayır	BioSeptra/Pall
Affi-Gel 601	Poliakrilamid	Belirtilmemiş	Boronat	Hayır	Bio-Rad Laboratories
Cellulose	Selüloz	85-170	Heparin, IMAC, jelatin	Evet	Chisso/Amicon/Millipore

Ligandlara örnekler Çizelge 3'te verilmiştir. Afinite ligandları oldukça farklı türlerde maddeler olabilir. Proteinler gibi yüksek molekül ağırlıklı moleküllerin yanı sıra daha düşük molekül ağırlıklı bileşikler de afinite ligandı olarak kullanılabilir. Ayrıca herhangi bir biyolojik işlevi olmayan basit moleküllerin de kullanımı mümkündür. Hemoglobin saflaştırılması için katı desteğe bağlı imidazol [20] ve grup-seçici ligand olarak geniş uygulama alanı bulan reaktif boyalar [7, 21-24] bu tür ligandlara örnek olarak verilebilir.

Çizelge 3. Afinite kromatografisinde kullanılan bazı ligand grupları.

Uygulama Alanı	Ligand
Enzimoloji (enzimler, inhibitörler, kofaktörler)	Enzimler, substratlar ve analogları, ürünleri inhibitörleri, allosterik efektörleri, kofaktörler, antibadiler, biyolojik işlevi olmayan maddeler
Peptidler	Enzimler, antibadiler
İmmünoloji	Haptenler, antijenler, antibadiler
Protein kimyası (reseptörler, taşıma proteinleri, glikoproteinler)	Hormonlar, vitaminler, steroidler, lektinler, lipidler, antibadiler, mono- ve polisakkaritler
Nükleik asitler, nükleotidler	Nükleik asit bazları, nükleozidler, oligonükleozidler, dihidroksiboril türevleri
Hücre ve virüslerin izolasyonu	Antijenler, antibadiler, lektinler, hormonlar

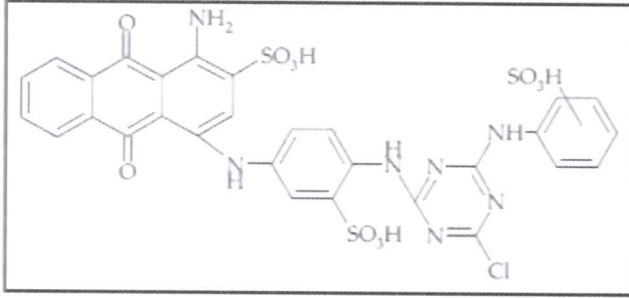
Afinite ligandları seçicilik ve kapasite bakımından oldukça geniş bir dağılıma sahiptirler. Antijen-antibadi etkileşimi gibi yüksek afiniteli etkileşimler ve enzim-substrat etkileşimleri gibi daha düşük afiniteli etkileşimler afinite kromatografisinde kullanılabilir.

Dar bir seçicilik aralığına sahip ligandın veya çok seçici bir ligandın kullanılması yüksek etkinlik ve saflıkta tek bileşiğin saflaştırılmasına olanak verir. Bu aynı zamanda saflaştırılacak her madde için özel bir ligand-matriks birleşimi gerektireceğinden

bir dezavantajdır. Dolayısıyla grup-seçici ligandlar çok daha büyük pratik öneme sahiptir [25-27]. Tek afinite matriksi ile çok çeşitli maddelerin saflaştırılmasına olanak verirler.

2.2.1 Grup Seçici Ligandlar

Bu grup ligandlara, glikoproteinlerin izolasyonunda kullanılan konkanavalin A, antibadi saflaştırılmasında kullanılan “stafilokok Protein A” ve “streptokok Protein G”, kalsiyum bağlı enzimlerin izolasyonunda kullanılan kalmodulin örnek olarak verilebilir [28]. Bu grubun önemli üyelerinden biri de heparindir. Heparin, pıhtılaşma ve diğer plazma proteinlerinin, çeşitli enzimlerin, steroid reseptörlerinin ve virüs yüzey antijenlerinin saflaştırılmasında kullanılmaktadır [29, 30]. İmmobilize lektinlerin şekerlerle seçici olarak etkileşme yetenekleri; lektinleri, çözünür ve membran-türevli glikoproteinlerin, polisakkaritlerin, enzim, hormon, kan plazma proteinleri, antijen, antibadi ve diğer kan bileşenlerinin saflaştırılmasında kullanılan mükemmel bir araç yapmıştır [31]. Lektinler arasında en sık kullanılan konkanavalin A'dır. α -D-Mannoz ve α -D-glukoza karşı seçicilik gösterir. Yüksek miktarda N-asetilglukozamin içeren glikoproteinler, genellikle buğday tohumu lektini kullanılarak saflaştırılmıştır. Mercimek lektini de konkanavalin A ile aynı seçiciliğe fakat daha düşük bağlanma sabitine sahiptir. Literatürde yer alan reaktif boyalar olarak da bilinen ticari tekstil boyaları, boya ligand afinite sistemlerinde, düşük maliyetle kolay elde edilir olmaları, immobilizasyondaki kolaylıklar ve yüksek protein bağlama kapasitesine sahip olmaları nedeniyle uzun yıllardır kullanılmaktadır [3]. Özellikle monoklorotriazin boya ligand Cibacron Blue F3GA'nın (Şekil 3) içerdiği asidik sülfonat gruplar ve dört temel primer ve sekonder aromatik amin gruplarıyla, nükleotid bağlı enzimlere ve serum albümin gibi proteinlere yüksek afinitesi ve seçiciliği uzun yıllardır bilinmektedir [3].



Şekil 3. Cibacron Blue F3GA'nın moleküler yapısı.

2.2.2. Biyoseçici Ligandlar

Yüksek seçiciliğe sahip olmaları antibadileri, afinite kromatografisi için çok önemli ligandlar yapmaktadır [14]. Hem antijenler hem de antibadiler afinite ligandı olarak kullanılabilir. Antijen veya antibadi immobilize taşıyıcılar, protein ve peptidlerin, çözünür hale getirilmiş membran proteinlerinin ve hücrelerin saflaştırılmasında kullanılmaktadırlar [6]. Günümüzde, poliklonal antibadilerle hazırlanan taşıyıcının yerini monoklonal antibadilerle hazırlananlar almıştır. Modern hibridoma teknolojisi, az miktarda hibridomalarla, istenilen seçicilikte ve afinite monoklonal antibadilerin üretimine olanak sağlamıştır. Monoklonal antibadilerin ligand olarak kullanılmalarının birçok avantajı vardır. Çok az miktardaki proteinler tek basamakta saflaştırılabilmekte, orta ve yüksek afinite değerleri (K_d 10^{-6} - 10^{-9} M) antijenin özelliklerini korumasını sağlamakta ve taşıyıcının ömrü yüz defa kullanıma kadar çıkabilmektedir. Monoklonal antibadi immobilize taşıyıcılarda, antijenler pH 2-3 civarında desorbe edilebilmektedir. Poliklonal antibadi immobilize taşıyıcılara göre yaklaşık olarak 10 kat daha büyük adsorpsiyon kapasitesi elde edilmektedir. Monoklonal antibadiler Fc bölgelerinden immobilize edildiklerinde bağlanma kapasitesi artmaktadır. Monoklonal antibadiler üniform

olduklarından tekrar edilebilir sonuçlar verirler. Bu da taşıyıcının tekrar kullanılabilirliğini artırır. Ligandın taşıyıcıya bağlanma miktarı (ligand yoğunluğu) önemli bir optimizasyon parametresidir. Monoklonal antiserumların en önemli dezavantajı pahalı olmaları ve bu nedenle genellikle küçük kolonlarda uygulamaya gidilmeleridir. Diğer önemli dezavantajları, immobilize moleküllerin protein olmasından dolayı bunların tersinmez denatürasyonu, proteolitik bozunmaya maruz kalmaları ve kirliliktir. Genelde biyopolimerlere veya lipidlere seçici olmayan adsorpsiyondan kaynaklanan kirlilik, ön saflaştırma basamaklarının uygulanmasıyla engellenebilir. Bu uygulama, aynı zamanda proteolitik atakları engeller. Ayrıca, monoklonal antiserum temelli taşıyıcılara ön işlemden geçirilmemiş örnekler asla doğrudan uygulanmamalıdır. Monoklonal antiserumların saflaştırılması için birçok yöntem mevcuttur. Yöntemler genel olarak, taşıyıcılara, stafilokok Protein A veya streptokok Protein G immobilizasyonuna ve tiyofilik taşıyıcılara dayanmaktadır. Katyon-değişim kromatografisi, hidrofobik etkileşim kromatografisi ve jel filtrasyon yöntemlerinin birlikte kullanılması birçok yarar sağlamaktadır.

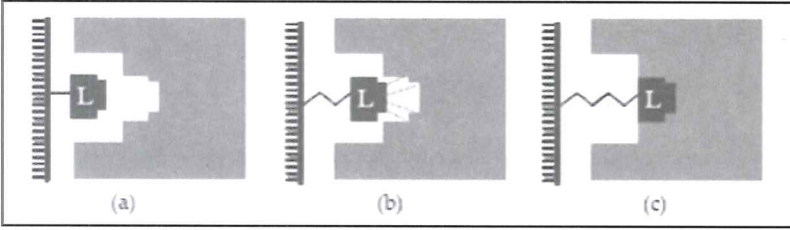
2.3. Uzatıcı Kollar

Genellikle düşük molekül ağırlıklı ligandların kullanıldığı durumlarda ($MA < 5000$) sterik engellemelerin giderilmesi amacıyla taşıyıcıya çift fonksiyonlu diamin bileşikler “uzatıcı kol” bağlanır (Şekil 4). Bu tür taşıyıcıların sentezi için iki yöntem vardır;

- Uzatıcı kol taşıyıcıya bağlanır ve aktivasyon ile uzatıcı kolun uç grubuna ligand bağlanır.
- İkinci yöntemde uzatıcı kol sübstitüent olarak liganda bağlanır. Daha sonra matriks aktivasyonu gerçekleştirilir. Böylece uzatıcı kol-ligand kompleksi taşıyıcıya doğrudan bağlanır.

Her iki yöntemin de avantajları ve dezavantajları vardır. Basit olması nedeniyle daha çok ilk yöntem kullanılır. Dezavantajı

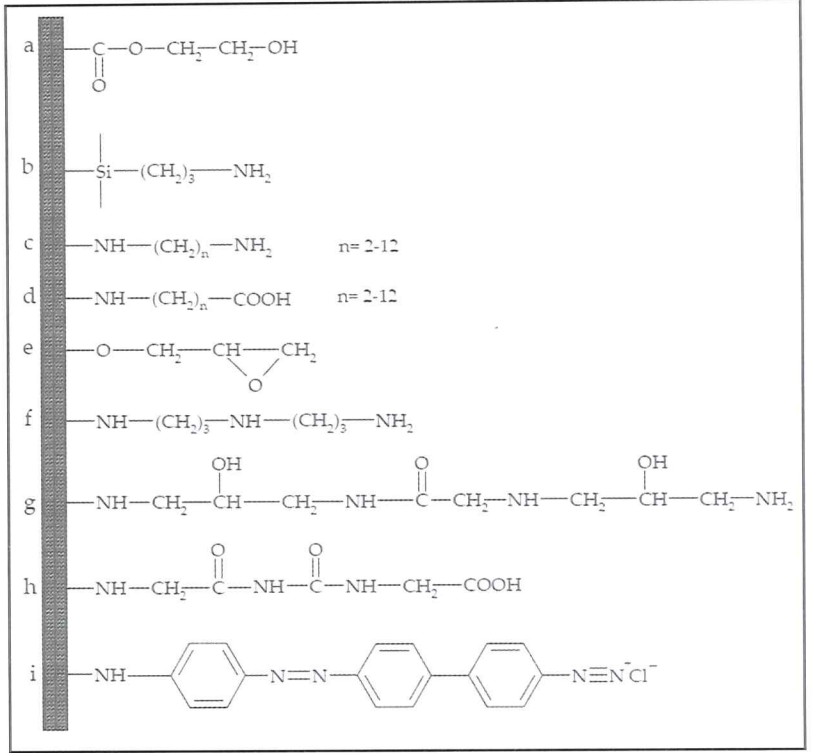
sentezlenen matriksin heterojenliğidir. Polimer analogu tepkime üzerinden basamaklı sentez sonucu, matrikste kalan sübstitüe olmamış uzatıcı kollar hidrofobik veya iyonik etkileşimlere girerek seçici olmayan bağlanmaya neden olurlar. Seçici olmayan etkileşimler uzatıcı kolun zincir uzunluğuna ve yapısına bağlıdır. Ayrıca pozitif yüklü amin azotunun oluşması etkileşimin bozulma olasılığını artırır. Çok sayıda uzatıcı kol ve bunların değişik matrikslere bağlanması araştırılmış ve bazı karakteristik örnekler Şekil 5'de özetlenmiştir.



Şekil 4. Uzatıcı kolun işlevi (a) bağlanmama, (b) zayıf etkileşim; (c) ligand ve substrat arasında optimum etkileşim.

2.4. Aktivasyon Yöntemleri

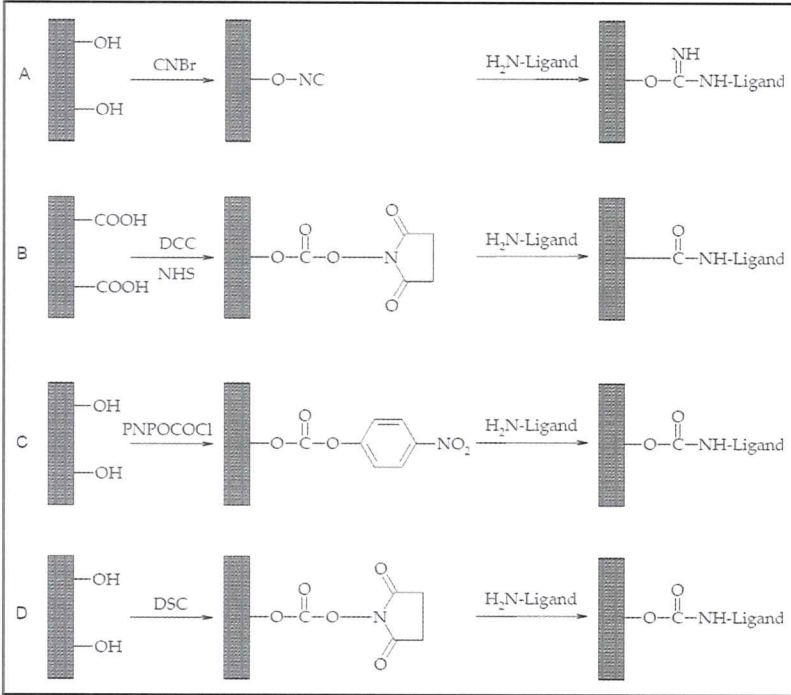
Ligandların taşıyıcılara immobilizasyonu için çok çeşitli yöntemler bulunmaktadır. En sık kullanılan yöntem, siyanojen bromür (CNBr) aktivasyonudur. Bu yöntem yaygın olarak kullanılmasına rağmen, ligandın taşıyıcıya izoüre türevleri üzerinden bağlanması, saflaştırma işlemi sırasında bazı sorunlara neden olmaktadır. Bu sorunlar; yükten dolayı seçici olmayan bağlanma ve izoüre bağının kararsızlığından dolayı ligand sızmasıdır [32].



Şekil 5. Afinité kromatografisinde kullanılan bazı uzatıcı kollar: (a) Hidroksialkil metakrilat; (b) 3-aminopropilsilan; (c) w,w'-diaminoalkanlar; (d) w-aminokarbonik asitler; (e) bisoksiran; (f) 3,3'-diaminopropilamin; (g) 1,3-diamino-2-propanol; (h) oligopeptidler; (i) diazonyum tuzları.

Afinité kromatografisinin ilk uygulanmaya başladığı zamanlarda en çok kullanılan aktivasyon yöntemlerinden biri de, ligandin matrikse N-hidroksi süksiminid gibi aktif esterler üzerinden bağlanmasını sağlayan yöntemdir [33]. Aktif esterlerin hazırlanabilmesi için matriksin karboksil grupları içermesi gerekmektedir. Bu matriksler, kolaylıkla agaroz üzerindeki

hidroksil gruplarının, CNBr, aktif karbonatlar ve istenen uzatıcı kol uzunluğuna göre α -amino asitlerle aktive edilmesiyle hazırlanabilirler (Şekil 6).



Şekil 6. Değişik aktive taşıyıcılara ligand immobilizasyonu: (A) siyanat ester, siyanojen bromür aktivasyonu ile elde edilen izoüre türevi; (B) amid türevi ile sonuçlanan N-hidroksi süksinimit asit esteri; (C) ve (D) p-nitro-fenilkloroformat aktivasyonu sonucu elde edilen p-nitro-fenil ve N-hidroksi süksinimit karbamat türevleri.

Bu yöntemlerin kararlılık sorunları [34] nedeniyle N,N,N,N-tetrametil (süksinimid) tetrafloroborata dayalı yeni bir yöntem geliştirilmiştir [35]. Bu tür aktive edilmiş matrikslere kovalent olarak bağlanmış ligandlar kararlı amid bağları oluştururlar. Diğer

bir aktivasyon yöntemi, polisakkaritlerin de aktivasyonunda kullanılan, hidroksil fonksiyonel gruplarına sahip polimerlerin N-N disüksinimidilkarbamatla (DSC) aktivasyonudur. Bu türevler fizyolojik pH'da nükleofillerle tepkimeye girmekte ve ligand kararlı karbamat bağı ile matrikse bağlanmaktadır. Çeşitli ligandların (enzimler, enzim inhibitörleri, antijenler ve antibadiler) biyolojik aktivitelerini kaybetmeden immobilizasyonu aktive karbonat taşıyıcılarla mümkün olmaktadır [11].

2.5. Desorpsiyon İşlemi

Başarılı bir afinite kromatografisi uygulaması için en önemli basamak adsorbe olmuş proteinin tekrar kazanılmasıdır. Desorpsiyonu başarabilmek için belirli bir protokolün olmadığını, her sistem için özel bir uygulama yapılması gerektiğini vurgulamak yerinde olur. Desorpsiyon yöntemleri seçici olabilir veya olmayabilir. Genellikle grup seçici ligandlar için seçici desorpsiyon, seçiciliği yüksek ligandların kullanıldığı durumlarda ise seçici-olmayan desorpsiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Desorpsiyon işleminde desorpsiyon ajanının kuvvetli olması ve desorbe edilen malzemenin denatüre olma riski arasında bir denge kurulmalıdır. Kompleksi bir arada tutan kuvvetlerin elektrostatik etkileşimler, hidrofobik etkiler ve hidrojen bağları olduğu göz önünde bulundurulursa, bu etkileşimleri zayıflatacak ajanların etkin desorpsiyon ajanı olarak kullanılabilmesi beklenir. Desorpsiyon, ortam koşullarının basamaklı veya sürekli olarak değiştirilmesiyle gerçekleştirilebilir.

pH değişimi, bağlanma bölgesindeki yüklü grupların iyonizasyon derecesini değiştirir. Desorpsiyon genellikle pH'ın azaltılmasıyla gerçekleşir. Taşıyıcının, ligandın ve saflaştırılacak maddelerin kimyasal kararlılığı pH ile desorpsiyonun kullanılabilirlik sınırlarını belirler.

Artan iyonik şiddetli tamponlarla da gradyent veya basamaklı olmak üzere iki tür desorpsiyon gerçekleştirilir. NaCl sıklıkla

kullanılır ve enzimler genellikle 1 M veya daha düşük tuz derişiminde desorbe edilebilirler. Etkileşimin afinitesi çok yüksekse ($K_d < 10^{-6}$ M) kaotropik bir tuz gerekebilir.

Afinite desorpsiyonunda, grup-seçici taşıyıcılara bağlanan veya bağlanma afiniteleri görece düşük olan ($K_d 10^{-4}$ - 10^{-6} M) maddeleri ayırmak için sıklıkla seçici desorpsiyon ajanları kullanılır. Seçici olarak alıkonan maddeler düşük derişimlerde, genellikle 10 mM'dan az, desorpsiyon ajanı ile yer değiştirirler. Desorpsiyon ajanı adsorplanan maddeye veya liganda bağlanmak üzere yarışabilir. Proteinler tek bir desorpsiyon ajanının derişim gradyentiyle veya birkaç desorpsiyon ajanının basamaklı uygulamasıyla desorbe edilebilirler.

Desorpsiyon ajanının polaritesi azaltılarak da desorpsiyon gerçekleştirilebilir. Bunun için dioksan (%10'a kadar) veya etilen glikol (%50'ye kadar) kullanılmaktadır.

Bu yöntemlerin hiçbirinin işe yaramadığı durumda proteinin yapısını değiştiren deforme edici tamponlar kullanılmaktadır. Kaotropik tuzlar, guanidin-HCl veya üre bu amaçla kullanılabilir [36].

2.6. Rejenerasyon İşlemi

Taşıyıcının tekrar kullanım derecesi örneğin niteliğine, ligand ve matriksin kullanılan desorpsiyon koşullarına karşı dayanıklılığına bağlıdır. Rejenerasyon için daha özel bir işlem gerekmiyorsa aşağıdaki işlemler uygulanabilir;

1. Kolon on katı hacimde 0.5 M NaCl içeren pH 8.5'e ayarlanmış 0.1 M Tris-HCl tamponu ile yıkanır.
2. Kolon on katı hacimde 0.5 M NaCl içeren, pH 4.5'e ayarlanmış sodyum asetat tamponu ile yıkanır.
3. Başlangıç tamponu ile tekrar dengelenir.

Kromatografik işlem sırasında deterjan veya denatüre edici ajan kullanılmışsa ilk yıkama tamponunda bunlar da kullanılabilir [36].

3. AFİNİTE KROMATOĞRAFİSİNDE KULLANILAN POLİMERİK TAŞIYICILAR

3.1. Yapılarına Göre Polimerik Taşıyıcılar

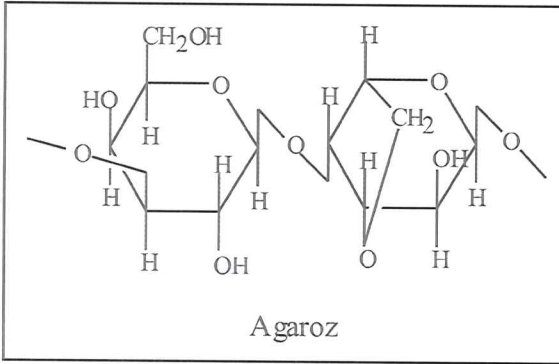
Afinite yönteminde yaygın olarak kullanılan doğal ve sentetik taşıyıcılar ve özellikleri aşağıda kısaca özetlenmiştir.

Agaroz: Afinite kromatografisinde en yaygın olarak kullanılan matriks agarozdur. Doğal lineer bir polisakkarit olup, D-galaktoz ve 3-anhidrogalaktoz birimlerinin ardarda dizilmelerinden meydana gelmiştir (Şekil 7). Agaroz, doğada heterojen yapıda ve beşgen halka şeklinde bulunur ve saflaştırılmamış agaroz başta sülfat ve karboksilat olmak üzere birçok iyonik grup içerir (Şekil 8). Ticari agaroz taşıyıcıda % 0.37 kükürt vardır.

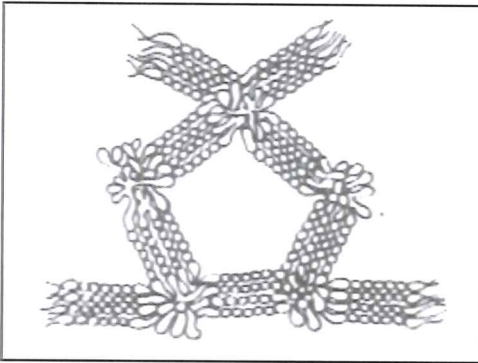
Agaroz, sodyumborohidrid ile önileme tabi tutularak polimerik taşıyıcı yüzeyinde istenmeyen etkileşimler yaratacak iyonik gruplar uzaklaştırılır. Örneğin, enzimin afinitesi ligand için zayıf olduğunda ve taşıyıcı yüzeyinde iyonik gruplar var ise, bu iyonik gruplar iyon değişimi oluşturacak ve seçici etkileşimden çok iyonik etkileşimler önem kazanacaktır.

Agaroz, agar, karragen gibi deniz alglerinden elde edilmektedir. Esas olarak galaktoz birimlerinden oluşan fakat sülfat, ester, metoksil, karboksil, vb. gibi çok değişik gruplar taşıyan agarozlar mevcuttur. Agaroz jellerde, hidrojen bağları ikincil çapraz bağlar oluşturarak jelleşmeye yol açar. Bu tür çapraz bağlar ısı veya üre, guanidin ve deterjan gibi maddelerin varlığında parçalanır. Jelin üç boyutlu yapısı bozunur ve çözünme gözlenir. Kromatografik uygulamalarda jel gözenek yapısını kontrollü bir şekilde hazırlamak ve çözünmeyi engellemek için epiklorhidrin ile

kovalent çapraz bağlar oluşturulur. Hidrofilitesi ve minimum seçici olmayan adsorpsiyon göstermesi agarozun yaygın kullanımının en önemli nedenidir [37].

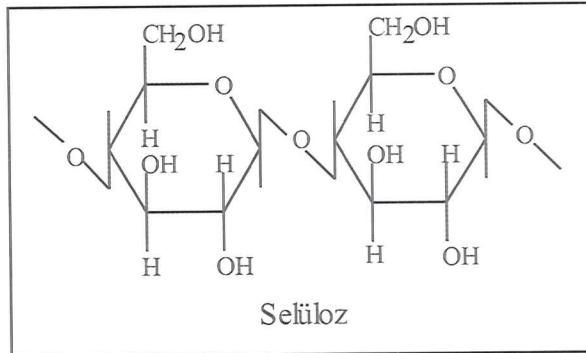


Şekil 7. Agaroz Zincirinde Tekrarlanan Monomer Birimi.



Şekil 8. Agarozun Şematik Yapısı.

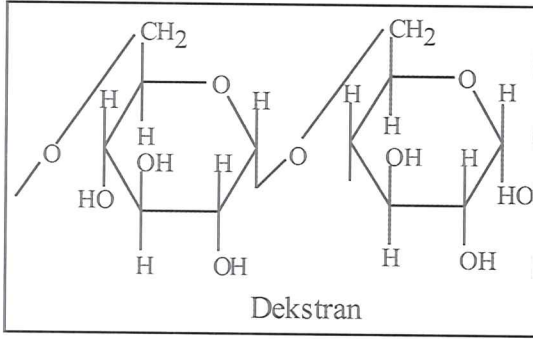
Selüloz: Selüloz ve türevleri başta fiber ve nanofiber teknolojisi olmak üzere, günümüzde değişik alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [38]. Selüloz D-glukoz birimlerinden oluşan lineer bir polimerdir (Şekil 9). Polimerik yapının sahip olduğu kuvvetli hidrojen bağları matriksin çok zor çözünmesine ve işlenmesine neden olur. Bu sorunun giderilmesi amacıyla, doğal selüloz, viskoz rayon prosesi gibi yöntemlerle işlenerek yarı sentetik denilebilecek rejenere selüloz türevleri elde edilir. Kromatografide kullanılmak üzere istenilen gözenek yapısında, yeterli mekanik ve ısı dayanıklılığına sahip, selülozik taşıyıcı matrikslerin hazırlanması oldukça yeni olup, enzim immobilizasyonunda başarı ile kullanılmasına rağmen henüz kromatografi için üretilen taşıyıcılar çok azdır. Selülozik matrikslerde epiklorhidrin gibi çapraz bağlayıcılar kullanılarak istenilen gözenek yapısına ve matriks dayanıklılığına ulaşılabilmektedir.



Şekil 9. Selülozun Yapısı.

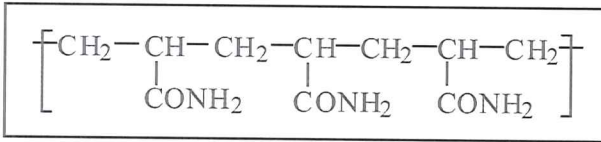
Dekstran: Dekstran α -glukoz yapısında bir polimerdir. Önemli bir ticari ürün olan sephadex, dekstranın epiklorhidrin ile çapraz bağlanmasından elde edilmektedir (Şekil 10). Yapısında hidroksil grubunun fazlalığı nedeniyle matriks hidrofiliktir. Dekstranın en önemli özelliği, yapının tersinir olarak şişme-büzülme özelliği göstermesi, kimyasal olarak son derece kararlı olması ve

özelliklerini değiştirmeden ısı ile sterillenebilmesidir. Ancak uzun süreli kullanımlarda oksidasyon sorunu vardır. Ayrıca mekanik dayanıklılık çapraz bağ yoğunluğu ile arttırılmak istenirse, gözeneklilik azalmakta ve buna paralel olarak yüzey alanı küçülmektedir. Çapraz bağ yoğunluğunun azalması durumunda kırılğan yapılar elde edilir. Optimizasyon ile uygun taşıyıcıların hazırlanması mümkündür [37].



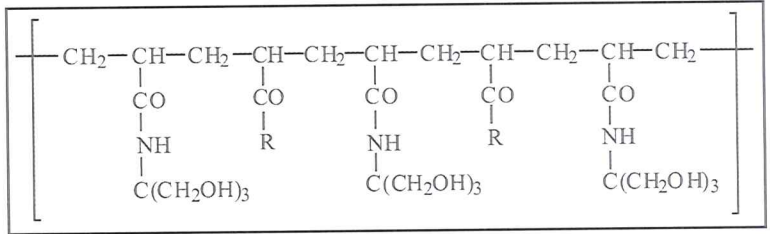
Şekil 10. Dekstranın Yapısı.

Poliakrilamid: Poliakrilamid akrilamidin, N,N'-metilen bisakrilamid çapraz bağlayıcısı ile polimerizasyonu ile hazırlanır (Şekil 11). Biyolojik açıdan inert olan bu taşıyıcılar pH 1-10 aralığında kullanılabilir. Mekanik zayıflıkları en önemli dezavantajlarıdır [37].



Şekil 11. Poliakrilamid.

Trisakril: Bu sentetik polimerik taşıyıcılar N-akrilo-2-amino-hidroksimetil-1,3 propan diol'ün N,N-dialliltetradiamin çapraz bağlayıcı ile polimerizasyonu ile ticari olarak üretilmektedir (Şekil 12). İyon değıştirci kolonlarda kullanılmak üzere sübstitüye trisakril jelleri de hazırlanmaktadır. Bu jellerin en önemli özellikleri, polietilen ana zincirine takılmış hidroksimetil grupları nedeniyle çok yüksek hidrofilisiteye sahip olmaları, -20°C ve -121°C sıcaklık aralığında kararlı olmaları, özellikle yüksek basınca dayanmaları nedeniyle, yüksek performans kolon çalışmalarında uygun olmalarıdır. Asidik pH'a dayanıklı olmalarına rağmen yüksek pH'da amid bağları yavaş da olsa hidroliz olmaktadır [37].

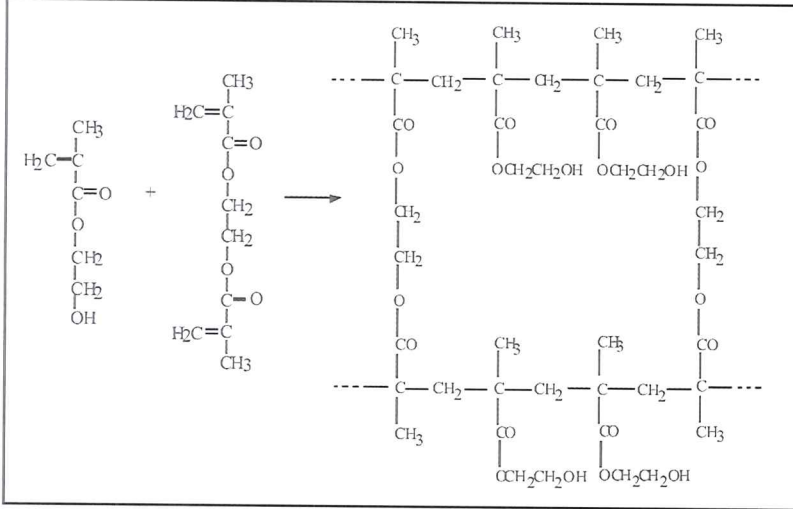


Şekil 12. Trisakril'in Yapısı: R = COOH, CM-trisakril.

R = NH (CH₂)₂-NH (CH₂)₂, DEAE-trisakril; R=NH₂, trisakril.

Eupergit-C: Röhm Pharma tarafından üretilen Eupergit-C oksiran bazlıdır. Metakrilamid, metilenbisakrilamid ve/veya allilglisidileter'in kopolimerizasyonu ile hazırlanırlar. Bu sentetik polimer elektronötr ve hidrofilik olup standart kromatografik uygulamalar için 150 µm, yüksek performans biyoafinite kromatografisi için 30 µm boyutlarında hazırlanabilirler. Partiküller -30°C 'da aktivitelerini kaybetmeden aylarca saklanabilirler. Makrogözenek yapıları nedeniyle 155,000 molekül ağırlığından küçük ajanlar için uygun bir immobilizasyon ortamıdır. Eupergit-C dolgulu kolonlarda 1 atm basınç değerine kadar, yüksek ve sabit sıvı faz akış hızında çalışılabilmektedir [37].

Polihidroksiethylmetakrilat: PHEMA yüksek biyolojik uyuşabilirliği nedeni ile biyolojik uygulamalarda en yaygın olarak kullanılan polimerlerin başında yer alır. Biyolojik amaçlı PHEMA ilk kez Wichterle ve Lim tarafından sentezlenmiştir [39]. İlk uygulaması yumuşak kontak lens yapımıdır. Çapraz bağlı PHEMA partiküller, özellikle biyotıp ve farmakoloji alanlarında yaygın bir kullanıma sahiptir. Bu mikropartiküller, HEMA monomerinin az miktarda çapraz bağlayıcı ajanla (etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) veya tetraetilenglikol dimetakrilat (TEGDMA) kopolimerizasyon/çapraz bağlanma reaksiyonu sonucu hazırlanmaktadır. Polimerizasyon reaksiyonu Şekil 13'de gösterilmiştir.



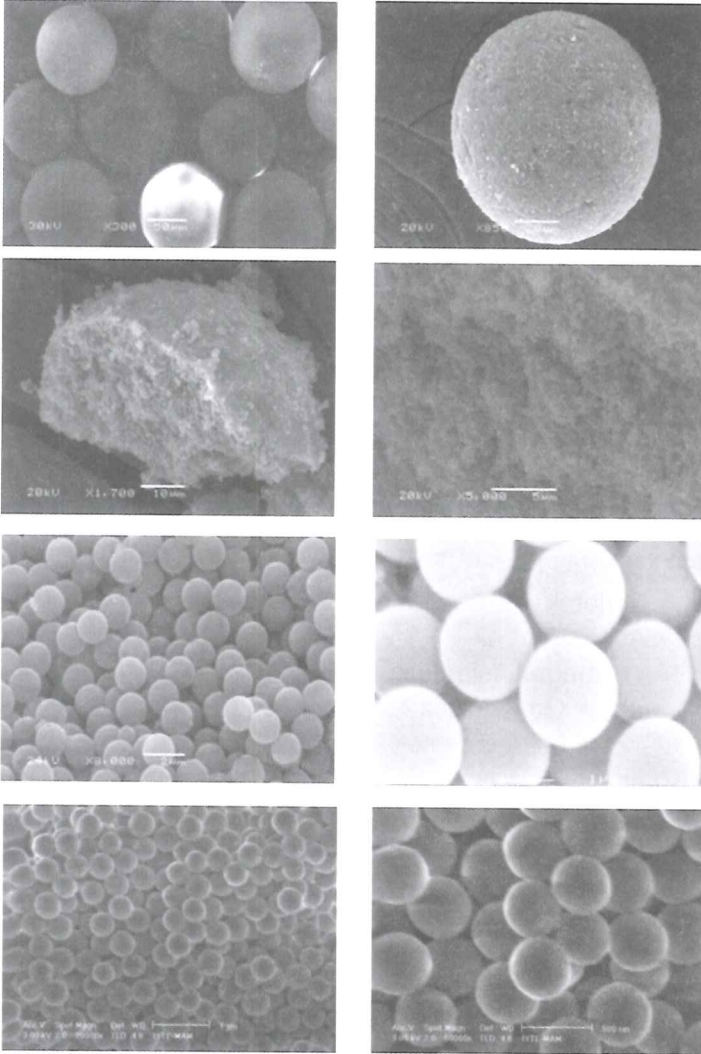
Şekil 13. HEMA/EGDMA kopolimerizasyon/çapraz bağlanma tepkimesi.

Son yıllara kadar, hidrofilik HEMA monomerini süspanse duruma getirecek uygun bir kimyasalın bulunamayışı nedeniyle, çapraz bağlı PHEMA partiküllerin üretimi gerçekleştirilememiştir. Mueller, Horak ve Peppas tarafından yürütülen polimerizasyon çalışmalarında üç yeni yöntem geliştirilmiştir [40]. Bu yöntemlerde, dağıtma ortamı olarak $Mg(OH)_2$ çözeltisi ve alkol karışımları (dodekanol ve sikloheksanol) kullanılmış ve 10-800 μm boyut aralığında çapraz bağlı PHEMA partiküller süspanسیون polimerizasyonu ile elde edilmiştir.

3.2. Geometrik Şekillerine Göre Polimerik Taşıyıcılar

3.2.1. Polimerik Mikroküreler

Küresel formda polimerik partiküller, çeşitli polimerizasyon yöntemleri ile 10-100.000 nm aralığında üretilmektedir (Şekil 14). Bu amaçla emülsiyon, dispersiyon, çöktürme ve çok-basamaklı mikrosüspanسیون polimerizasyonu yöntemleri kullanılmaktadır [41]. Seçilen yöntem, ortalama partikül boyutu, yüzey ve gözeneklilik özelliklerini kontrol eden en önemli faktördür. Polimerik partiküller, biyoteknolojik ve biyotıp amaçlı uygulamalarda yaygın bir kullanım potansiyeline sahiptir. Polimerik partiküller kullanılacakları uygulamanın türüne bağlı olarak, farklı polimerizasyon yöntemleri ile normal veya çapraz bağlı, gözenekli veya gözeneksiz formlarda, fonksiyonel grup içerecek veya içermeyecek şekilde üretilmektedir. Bu amaçla günümüze değin farklı polimerizasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler ile üretilen polimerik partiküller elektron mikroskoplarında kalibrasyon malzemesi, lazer taramalı konfokal mikroskopta floresan prob, teşhis kitlerinde destek malzemesi, farklı kromatografik uygulamalarda özellikle yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde destek malzemesi, kan akışı ve fagositoz takibinde, hücre kültürü ve hücre-haritalama çalışmalarında izleyici olarak kullanılmaktadır [41].



Şekil 14. Kromatografi uygulamalarında kullanılan farklı boyutlardaki mikroküre formunda destek malzemelerinin SEM görüntüleri.

3.2.2. Polimerik Membranlar

Membranlar kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak dört ana grupta sınıflandırılabilir [42]. Membranlar;

- Gözenekli veya gözeneksiz,
- Simetrik veya asimetrik yapıda,
- Elektriksel olarak yüklü veya nötr,
- Katı veya sıvı olabilir.

Bir membranın yapısal olarak sınıflandırılmasında kimyasal, mikrokristalin ve gözenek yapı özellikleri göz önüne alınır. Geçirgenlik ve seçicilik gibi özellikleri ise fonksiyonel olarak sınıflandırılmasında kullanılır. Çizelge 4'te membranların yapısal özelliklerine göre sınıflandırılması verilmiştir [43].

Çizelge 4. Membranların yapısal olarak sınıflandırılması.

- **GÖZENEKLI**
 - Simetrik
 - Asimetrik
 - İntegral Asimetrik
 - Gözeneksiz Zarlı
 - Mikrogözenek Zarlı
 - Kompozit
 - Gözeneksiz Zarlı
 - Mikrogözenek Zarlı
 - **GÖZENEKSİZ**
-

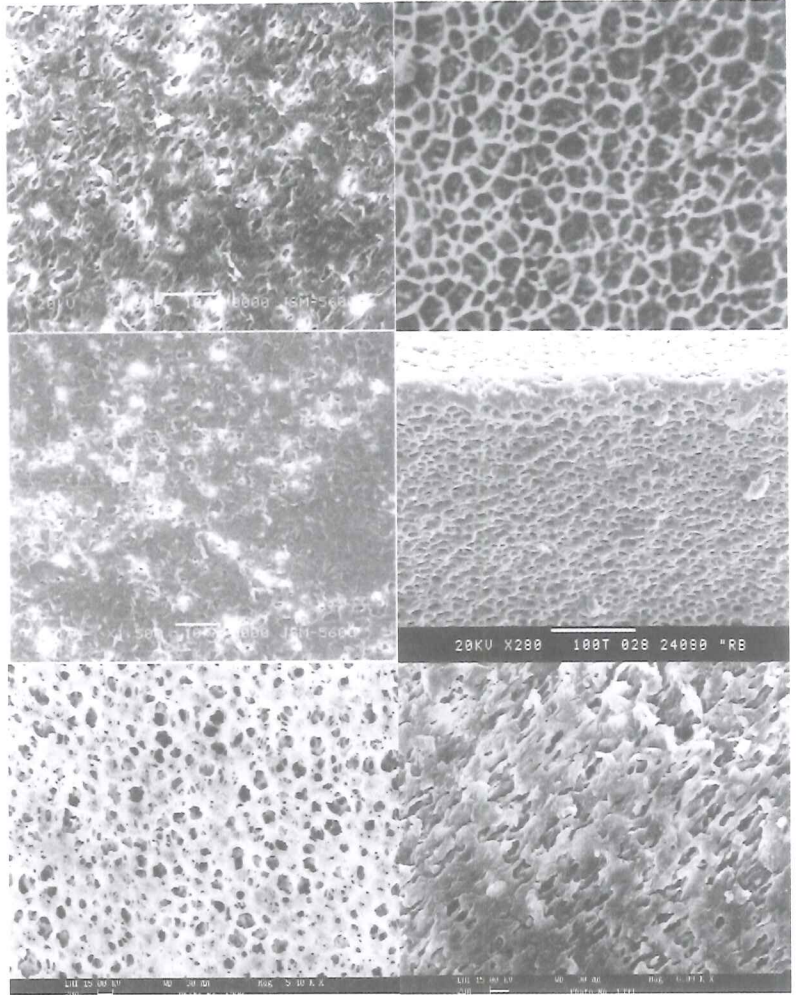
Çapları 5-50 nm aralığında değişen çeşitli büyüklükteki gözenekler içeren katı bir fazdan oluşan membranları, simetrik veya asimetrik yapıda hazırlamak mümkündür. Asimetrik olanlar tek polimerden (integral) veya birden fazla polimer tabakasından oluşabilirler (kompozit). Ayrıca gözeneksiz veya gözenekli yapıda ikinci bir membran tabakasına da sahip olabilirler. Membranın

seçiciliğinde bu sık ancak çok ince yapıdaki polimerik tabakanın önemli bir görevi vardır. İkinci grup membranlar gözeneksiz olarak adlandırılırlar. Bu membranlar sürekli ve gözeneksiz bir yapıya sahiptirler. Bazı durumlarda istenilen moleküllerin geçebilmesi için gözeneksiz membranlarda da gözenek olarak tanımlanabilecek boşlukların olması gerekmektedir.

Membranlar başta polimerler olmak üzere çeşitli malzemelerden değişik yöntemlerle hazırlanabilmektedir. Özel uygulamalarda kullanılabilen bu katı veya sıvı membranlar gözeneksiz veya gözenekli, elektriksel olarak yüklü veya nötr yapıda hazırlanabilir. Uygulama yerine göre mekanik dayanıklılık, kimyasal ve ısı kararlılık, biyolojik çevre ile uyumluluk göz önüne alınması gereken önemli özelliklerdir. Gözenekli ve gözeneksiz membranlar genel olarak beş ana grup altında üretilirler [44]. Bunlar;

- Sinterleme
- Germe-Uzatma
- Işınla-Aşındırma (*Track-Etching*)
- Çözücü Döküm
- Diğer Yöntemler

Bu yöntemler kullanılarak farklı gözenek ve yığın yapılarında membranları üretmek mümkündür.

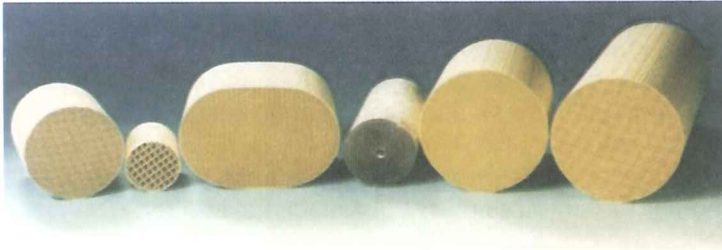


Şekil 15. Kromatografi uygulamalarında kullanılan membran formunda destek malzemelerinin SEM görüntüleri.

3.2.3. Monolitler

Monolit kelimesi, Latince bir sözcüktür; “*mono*” tek ve “*lit*” taş, kaya anlamlarını içermektedir. Böylece “monolit”, “tek taş parçası” olarak ifade edilmektedir. Amerika'daki 910 m yüksekliğindeki El Capitan kayası ve Menhir dikili taşları, dünyada bilinen en ünlü monolitik yapılardır. Doğanın bilim dünyasına sunduğu bu yapılar örnek alınarak monolitler, ilk defa 1990'lı yılların başında kromatografik destek malzemesi olarak kullanılmaya başlanmıştır [45].

Günümüzde; monolitler, birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadırlar. İlk olarak katalizör uygulamalarında kullanılan seramik monolitler, endüstriyel anlamda sayısız düzgün ve paralel kanal içeren bir blok olarak tanımlanmaktadırlar. Bu monolitik yapılar, yaklaşık 15 cm çapta ve farklı şekillerde hazırlanabilmektedir (Şekil 16). Kanalların çapı, 0.5 ile 10 mm aralığında değişmekte ve monolitin uzunluğu, 1 m'ye kadar uzayabilmektedir. Kanal yüzeylerine kimyasal tepkimede yer alacak katalitik bir tabaka uygulanabilir. Kanal sayısının oldukça fazla olmasından dolayı, kanal içerisinde hareket edecek sıvı ile katalitik tabaka arasındaki etkileşim alanı oldukça geniştir. Ayrıca; kanallar düzenli ve paralel olduğu için akış herhangi bir tıkanma olmadan gerçekleşmektedir. Monolitik kolonda olan basınç düşmesi de oldukça düşüktür.



Şekil 16. Farklı şekil ve boyutlarda hazırlanabilen monolitik malzemeler[46].

Alternatif Kolon Dolgu Malzemesi Olarak Monolitler

Birçok endüstriyel işlemde, geleneksel dolgulu kolonlar kullanılmaktadır. Dolgulu kolonların bu yaygınlığına rağmen, yavaş kütle aktarımı, partiküller arası boşlukların fazla olması ve yüksek basınç düşmesi, bu sistemlerin hızını ve etkinliğini olumsuz yönde etkiler [47]. Molekül ağırlığı 10^5 'i geçen makromoleküllerin ayrılmasında kolon verimini etkileyen koşulların teorik analizi, kolona doldurulan gözenekli partikül boyutunun ortalama 1 μm olması gerektiğini açığa çıkarmıştır. Bu boyutta partiküller elde edilse bile, kolon doldurulmasındaki sıkıntılar, kolon geri basıncı, tayin cihazı ve bağlantılardaki ölü hacim gibi sorunları da beraberinde getirmektedir. Eş boyutlu mikrokürelerle mükemmel doldurulmuş dolgulu kolonlarda bile mikroküreler arası en küçük teorik hacim, toplam kullanılabilir hacmin %26'sını oluşturmaktadır. Pratikte ise bu değer mikrokürelerin iç gözenekleri de dahil edildiğinde %30-40 civarındadır [48]. Monolitlerin geleneksel dolgulu kolonlardan farkı tek parçalı gözenekli yapısından kaynaklanmaktadır. Monolit yapısındaki birbiriyle bağlantılı gözenekler, kanallar arası bir ağ oluşturmaktadır. Kanal çapı, %60-80 gözenek oranıyla, 13 nm'den 4 μm 'ye kadar değişebilmektedir. Kanal içi kütle aktarımı akışla gerçekleştiğinden, hareketli faz ile sabit faz arasındaki aktarım çok hızlı gelişmektedir. Sonuç olarak, proteinler gibi oldukça büyük moleküller bile çok kısa sürede ayrılabilirler [49]. Buna ek olarak, gözeneklilikteki artış kolon geçirgenliğini artırarak, beklenenden daha yüksek verim sağlamaktadır. Monolitler, bal peteği gibi düzenlenmiş kanallardan oluşmaktadırlar. Birçok ayırma işleminde istenen düşük basınç düşmesi, monolit düzgün akış kanallarına sahip olmasıyla sağlanır. Kanal oluşumu ve şekli, hücre yoğunluğu, yüzey alanı; en az uzunluğu ve çapı kadar önemli parametrelerdir ve monolit üretimi sırasında değiştirilebilmektedirler.

Son yıllarda, sıvı kromatografi ve kapiler elektrokromatografi sistemlerinde dolgulu kolonlar yerine monolitik kolonlar tercih edilmeye başlanmıştır. Monolitik kolonlar, yapısal olarak iki temel gruba ayrılmaktadırlar:

- 1) Monolitik polimer kolonlar
- 2) Monolitik silika kolonlar

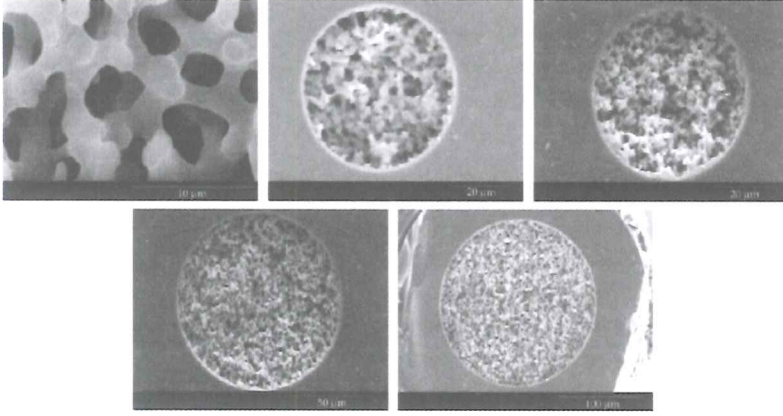
İlk defa 1990'lı yılların başında literatüre giren monolitik polimer kolonlar, stiren, metakrilat, akrilat, akrilamid gibi organik monomerlerle hazırlanmaktadırlar. Polimer monolitlerle hazırlanan kolonların verimi silika monolitlerle hazırlananlara oranla daha düşük olmasına rağmen, bazı polimer monolitik kolonlar, biyolojik makromoleküller için ticari olarak daha çok tercih edilmektedirler. Özellikle hidrofilik polimerik monolitler, proteinlerle, silika temelli malzemelerden daha yüksek uyumluluk gösterirler ve biyolojik makromoleküllerin gradient ayrılmasında daha kullanışlıdır. Metakrilat, akrilat, akrilamid temelli hidrofilik polimer monolitler, minimum tabaka yüksekliği 15-20 μm aralığında hazırlanabilmektedirler [50]. Polimer kolonlar, kapiler elektrokromatografi uygulamalarında monolitik silika kolonlara göre daha düşük fiziksel kararlılık göstermesine rağmen, yüksek kimyasal kararlılığa sahip olması ve iyonik gruplarla modifiye edilerek hızlı elektroozmotik akış sağlaması nedeniyle daha çok tercih edilmektedirler.

Monolitik silika kolonlar, polimer monolitlerden çok daha sonraları kullanılmaya başlanmıştır. Monolitik silika kolonların gözenek yapıları, akış özellikleri ve kolon etkinliği için yapılan karakterizasyon çalışmaları, bu tür kolonların daha avantajlı olduğunu göstermiştir. Monolitik silika kolonlarının en belirgin özelliği %60 dış ve %85 toplam olmak üzere geleneksel dolgulu kolonlara göre %20 daha fazla gözenekliliğe sahip olmasıdır (Şekil 17). Bu avantaj, özellikle sıvı kromatografi/kütle spektroskopisi (LC/MS) gibi hızlı ayırma sistemlerinde oldukça başarı göstermektedir [51]. Öyle ki, 130 cm uzunluğunda 8 μm

gözenek çapına sahip bir silika kolon, 1 mm/s akış hızında 100000 teorik plaka tabakasıyla, 5 µm'lik partiküllerle doldurulmuş bir kolondan 30 kat daha fazla geçirgenlik göstermektedir. Silika monolitik kolonlarla hazırlanan sabit fazlar, HPLC ve kapiler elektrokromatografi ayırma sistemlerinde hızlı ve oldukça etkin bir ayırma sağlarlar. Monolitik silika kolonların yüksek mekanik kararlılığı, özellikle aminoasit ve türevleri, siklik dekstrin türevleri, selüloz türevleri, peptidler ve proteinler gibi kiral moleküllerin kapiler elektrokromatografi uygulamalarını kolaylaştırmaktadır [52].

Polimer Monolitlerin Hazırlanması

Monolitler, sürekli yataklar olarak da tanımlanmakta ve homojen kolonlar veya diskler şeklinde hazırlanabilmektedirler. Genellikle tüp şeklindeki bir kalıp alt kısmı kapatılarak polimerizasyon çözeltilisi ile doldurulur, ısıt, kimyasal ya da UV ışık etkisiyle polimerizasyon başlatılır. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra, gözeneklerde kalan çözünen bileşikler kolondan uzaklaştırılır. Monolitlerin hazırlanmasında kalıp olarak paslanmaz çelik, poli(etil eter keton) (PEEK), cam, plastik mikroçip ve erimiş silika kapiler gibi çok değişik boyutlarda ve yapılarda malzemeler kullanılabilmektedir. Monolit hazırlanmasında sentetik organik malzemeler, doğal polimerler veya organik malzemeler kullanılmaktadır [53-55]. Farklı boyut ve yapılarda hazırlanabilen monolitler, düşük kütle aktarım direnci ve basınç düşmesi gibi hidrodinamik özellikleriyle geleneksel dolgu kolonlara göre birçok avantaj sunmaktadırlar. Her iki özellik de kromatografik performans, hız ve ölçek büyütmede önemli bir rol üstlenmektedir. Bundan dolayı, monolitler makromoleküllerin ayrılmasında preparatif ve analitik ölçekte geniş kullanım alanları bulmaktadırlar.



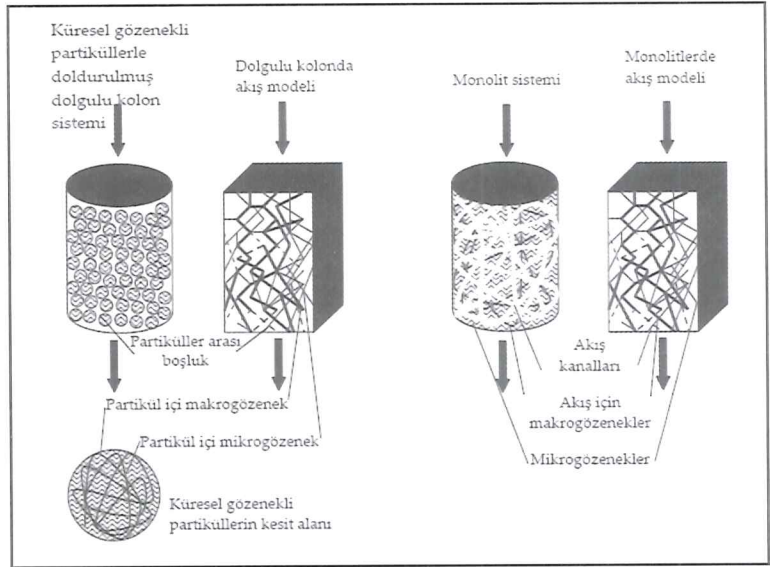
Şekil 17. Kapiler elektrokromatografi uygulamalarında kullanılan monolitik silika kapiler kolonların SEM görüntüleri [51].

Monolitlerin Gözenek Yapısı

Monolitlerin gözenek yapısı, yüksek akış hızlarında mükemmel bir ayırıcılığa olanak sağlamaktadır. Benzer etkiler, büyük gözeneklere sahip örgülerde de gözlenmektedir.

Gözeneklerden tam bir akışın gerçekleşmesi istenilen bir durumdur; monolitik yataklarda bu durum büyük oranda gerçekleşmektedir. Monolitik yataklarda partikül içi aktarımın performans üzerindeki pozitif etkisi, partikül içi aktarıma izin veren partiküllerle doldurulmuş yataklara göre daha büyüktür. Monolitler teorik olarak analitin hem akışı hem de difüzyon ile aktarımını sağlayan akış kanallarına sahiptir (Şekil 18). Bu teori, kübik örgü olarak adlandırılan bir modele dayanmaktadır. Bu model ile kütle aktarım hızını ve monolit içerisinde çözünenin gözenek difüzyon yeteneğini tahmin etmek de mümkündür. Şekil 18'de bu ağın nasıl modellendiği gösterilmektedir.

Gözenekli malzemelerin kullanıldığı adsorpsiyon, kataliz, iyon-değişimi, kromatografi ve katı faz sentezi gibi uygulama alanlarında, yüzeydeki aktif bölgeler ile analit birebir temas halindedir. Polymer gözenekliliği ne kadar artarsa, yüzey alanı da o kadar artar. Yüzey alanına en büyük katkı, 2 nm ile 50 nm aralığındaki mikrogözeneklerden sağlanmaktadır. Makrogözeneklerin yüzey alanına katkısı çok azdır. Fakat, makrogözeneklilik kolondan düşük basınçta sıvı akışına izin veren başlıca unsurdur. Bu basınç, hazırlanan destek malzemesinin toplam gözenekliliğine göre değişebilmektedir. Bu yüzden, monolitin gözenek boyutu dağılımı, uygulama alanına göre özel olarak ayarlanmaktadır.

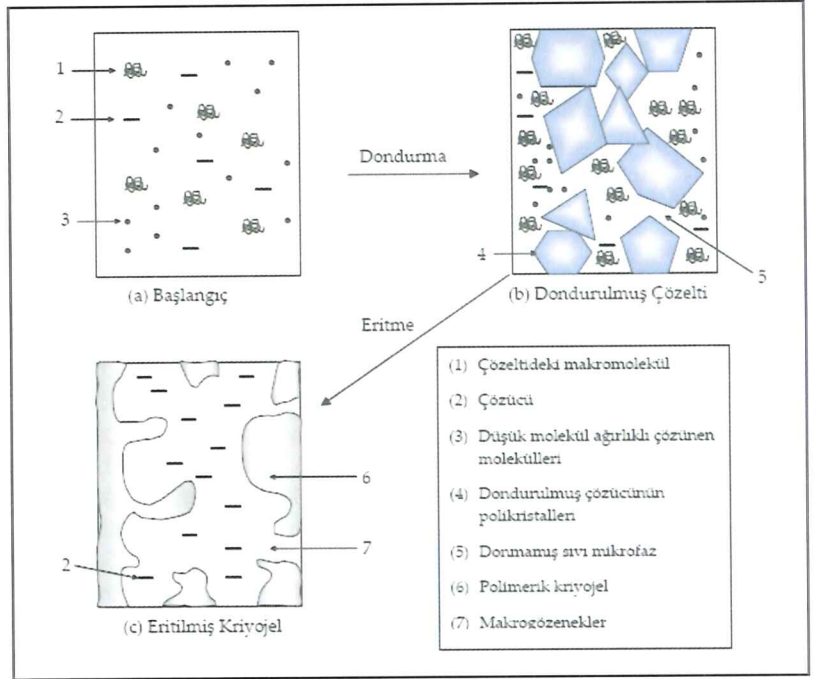


Şekil 18. Dolgu kolon ve monolit sistemlerine ait gözenek ağ modellerinin şematik gösterimi [56].

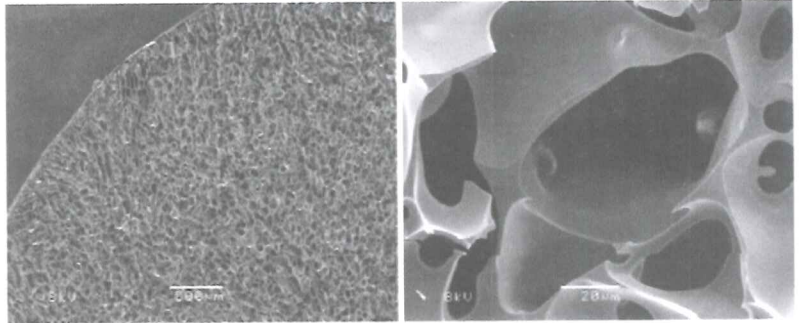
Monolitlerin gözenek yapısı kullanılan gözenek yapıcı çözücünün kalitesine ve miktarına bağlı olduğu kadar çapraz bağlayıcı ve monomer ile gözenek yapıcı faz oranına da bağlıdır. Makrogözenekli polimer monolitlerin gözenek ve akış özellikleri, kromatografi, kataliz, doğrusal-akış reaktörleri veya katı faz ekstraksiyonu gibi kullanılacak ayırma ortamına göre değişiklik göstermektedir.

3.2.4. Kriyojeller

Kriyojeller, donma sıcaklığının altında oluşan süpermakrogözeneklere sahip üç boyutlu jel matrislerdir [57-61]. Kriyojel oluşumu sırasında, öncü çözünen parçacıklar, hızla donabilen genellikle su gibi uygun bir çözücü içerisinde çözünür. İlerleyen aşamalarda çözücünün büyük kısmı donup birbirine bağlı buz kristalleri oluştururken, bu buz kristallerinin etrafındaki donmamış sıvıda bulunan polimer öncüleri polimerleşerek buz kristallerinin etrafında bir ağ yapı oluştururlar. Tepkime tamamlanınca donmuş karışım oda sıcaklığına getirildiğinde buz kristalleri erir ve “*kriyojel*” olarak adlandırılan gözenekli polimer ağ yapı elde edilir (Şekil 19). Gözenek duvarının etrafındaki çözücünün yüzey geriliminden dolayı buz kristallerinin erimesi, kriyojellerdeki gözeneklerin dairesel şekle sahip olmalarını sağlar (Şekil 20).



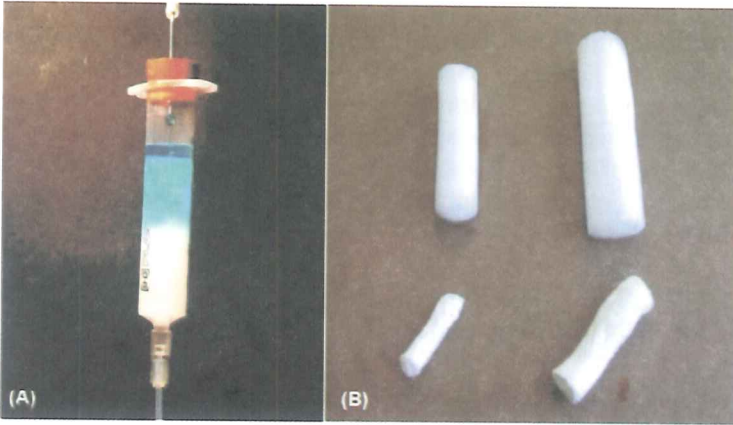
Şekil 19. Kriyojel üretiminin şematik gösterimi.



Şekil 20. Süpermakrogözenekli kriyojellerin taramalı elektron mikroskop görüntüleri.

Kriyojellerin eşsiz olmalarının nedeni hazırlanmalarının çok basit bir yöntemle, polimerin türüne bağlı olarak çok çeşitli uygulamalarda kullanılabilecek birbiriyle bağlantılı büyük ve açık gözenek ağına sahip yapıların elde edilmesine olanak vermesidir. Kriyojellerin birbiriyle bağlantılı yapısı taramalı elektron mikroskobu (Şekil 20), mikro-bilgisayarlı tomografi (μ CT) ve konfokal mikroskopla belirlenebilir. Polimer matriksin gözenek boyutu donma sıcaklığına ve monomerik ya da polimerik öncülerin türüne ve derişimine bağlı olarak 10 μ m ile 200 μ m arasında değişebilir.

Kriyojeller bir dizi sentetik ve doğal polimerler veya bunların birleşiminden üretilir. Bunlar polimer ağlarının hem fiziksel hem de kimyasal çapraz bağlanmasıyla oluşturulabilir. En çok kullanılan ve tam olarak karakterize edilmiş olanları poliakrilamid kriyojellerdir [62,63]. Kriyojellerin süngersi morfolojisi ve makrogözenekleri değişen büyüklükteki moleküllerin jel boyunca düzgün akışına olanak verir. Çözelti kriyojel boyunca hem difüzyon hem de taşıyıcıyla çok rahat hareket eder ve kütle aktarımı çok etkin gerçekleşir (Şekil 21A).



Şekil 21. Kriyojel kolonların (A) akış dinamiği ve (B) şişme özellikleri.

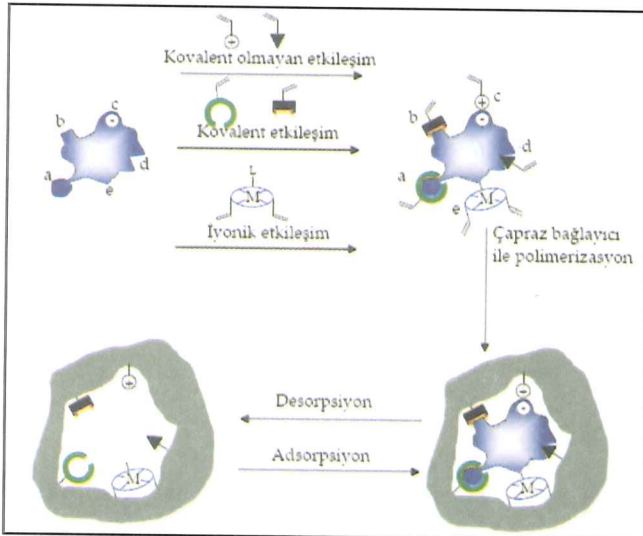
Kriyojeller, hücrelerin gelişimi ve üremesi için uygun üç boyutlu yapıya sahiptirler. Makrogözenekli doğası nedeniyle sahip olduğu hızlı şişme kinetiği (Şekil 21B) onları ilaç taşıyım araçları ve biyosensörler gibi uyarı-duyarlı sistemlerin tasarımına uygun kılar. Kriyojellerin biyoyırma alanında kullanıldığı ilginç bir uygulama geniş gözenek çaplarına sahip olmasından dolayı sadece protein ayırımı için değil mikrobiyal ve memeli hücre ayırımlarında da kullanılabilmesidir. Poliakrilamid ve polidimetakrilamitten oluşan kriyojeller kan hücreleri gibi çeşitli memeli hücrelerinin afinite ayırımı için kullanılmaktadır. Kriyojellerin elastik ve süngersi yapısıyla kazandıkları tersinir deformasyon özellikleri sayesinde afinite kriyojel kolonlara bağlanan biyopartiküller kolondan etkin şekilde sökülerek desorpsiyon basamağının başarılı bir şekilde uygulanmasına neden olurlar. Bu yöntemde önemli olan hücrelerin özellikle, mekanik kuvvet uygulanarak ayrılmasının etkin olmasıdır.

Biyobozunur polimerler ve özellikle hidrojel, teşhis ve doku mühendisliği gibi tedavi yöntemlerinde çok geniş uygulama alanlarına sahiptirler. Özellikle doku mühendisliğinde kullanılan destek malzemelerinin yüzey özellikleri, hücre afinitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Destek malzemesine hücrenin yapışması ve büyümesi, hücre afinitesinin en önemli etkenlerindendir. Malzeme yüzeyinin hidrofilik, pozitif yüklü, yüksek yüzey enerjisine sahip ve gözenekli bir yapıda olması, hücre afinitesi için istenen özelliklerdir. Makrogözenekli hidrojel (kriyojeller), geleneksel jel taşıyıcılarından çok daha iyi sonuç veren jel matrislerdir [64].

4. AFİNİTE KROMATOĞRAFİSİ VE MOLEKÜLER BASKILAMA YÖNTEMİ

Moleküler tanıma temeline dayanan ayırma sistemleri arasında "Moleküler Baskı" yöntemi ile hazırlanan taşıyıcılar hedef moleküle olan yüksek seçicilikleri nedeniyle oldukça ümit vaat

etmektedirler. Moleküler baskı yönteminin temeli Şekil 22'de gösterilmiştir. Bu yöntem üç basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamakta hedef molekülün (kalıp) fonksiyonel grup taşıyan ve polimerleşebilen bir monomer ile kompleks oluşumu gerçekleşir. Bu basamakta kalıp etrafında fonksiyonel monomerin bağlandığı bir yapı oluşumu söz konusudur. Bu etkileşimde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri önemli bir yer tutar. İkinci basamakta bu kompleks yapı fonksiyonel monomer üzerinden polimerleştirilir. Son basamakta ise oluşan polimerik yapıdan "hedef molekül" veya başka deyişle "kalıp molekül" uzaklaştırılır. Hedef molekülün yapıdan uzaklaştırılmasından sonra bu "baskılanmış" bağlanma bölgeleri saflaştırılmak istenen moleküle yüksek seçicilik ve ilgi gösterir. Moleküler baskı yöntemi ile çok ilginçtir ki istenilen enzim tepkimelerinin eğer substratları, ürünleri veya geçiş analogları kalıp molekül olarak kullanılabilirse "YAPAY ENZİM" veya aynı yaklaşımla "YAPAY ANTİKOR" elde etmek bile mümkündür [65].



Şekil 22. Moleküler baskılanmış polimer hazırlanmasının şematik gösterimi.

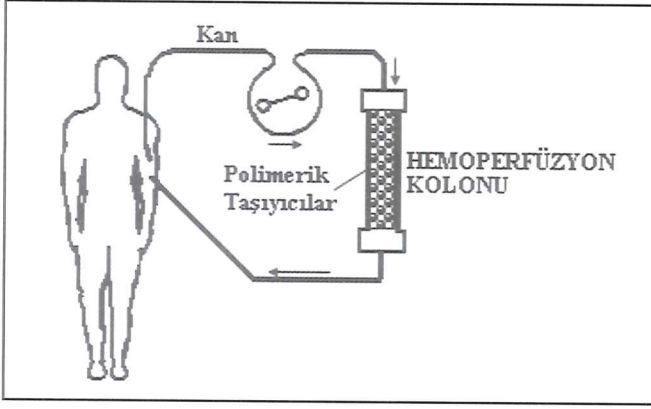
"Moleküler Baskı" yöntemi ile L-fenil alanin ve L-valin gibi aminoasitler ve peptidler; 9-etiladenin gibi nükleotid baz analogları; efedrin, psödoefedrin gibi β -adrenerjik uyarıcılar ile timolol, propranolol gibi β -adrenerjik blokerler ve naproxen gibi anti-enflamatuvar ilaçlar, kolesterol, kortikosteroidler, testosteron, α -hidroksiprogesteron ve kastasteron gibi hormonlar, fenil- α -p-mannopiranosid gibi şekerler için baskılanmış polimer temelli afinite taşıyıcıları hazırlanmıştır. Sonuç olarak bu moleküler baskılanmış ve hedef molekülü tanıma yeteneği olan taşıyıcı polimerlerin saflaştırılması istenilen hedef moleküllere mükemmel bir seçicilik gösterdiği ve büyük bir başarı ile uygulanabildiği belirlenmiştir. Moleküler baskılanmış taşıyıcıların son dönemdeki önemli alt bölümlerinden biri de afinite-temelli katı faz özütlemesidir. Moleküler baskılanmış polimerlerin hedef moleküle afinitesinin çok kuvvetli olduğu bazı durumlarda kromatografik işlemlerde hedef molekülün yapıdan geri alınmasının çok yavaş gerçekleştiği gözlenmiştir. Katı faz özütlemesinde hedef molekülün taşıyıcı üzerine bağlanmasından sonra diklorometan ile yıkama ve metanol ile özütleme işlemleri gerçekleştirilmektedir. Moleküler baskılanmış katı faz özütlemesi ile zatüre tedavisinde kullanılan pentamidin ilacının saflaştırılmasında başarı ile kullanılmıştır. Moleküler baskılanmış katı faz özütlemesinin bir diğer uygulaması ise cerrahi müdahaleler esnasında anestezi amacıyla kullanılan sameridinin saflaştırılmasıdır [66].

5. AFİNİTE KROMATOĞRAFİSİNİN TEDAVİ AMAÇLI UYGULAMALARI

5.1. Hemoperfüzyon

Hemoperfüzyon, ilaç zehirlenmeleri ve kronik böbrek yetmezliklerinde başarıyla kullanılan bir tedavi yöntemidir. Bu

uygulamaların yanı sıra karaciğer yetmezliği, şizofreni, siroz vb. gibi metabolik kökenli ve nedeni tam olarak bilinemeyen bazı hastalıkların tedavisinde ve özellikle son yıllarda kanser ve benzeri hastalıklarda patojenik antibadilerin kandan



Şekil 23. Hemoperfüzyon.

Hemoperfüzyonun temel prensibi, kandaki zehirli veya zararlı metabolik atıkların aktif karbon, iyon değiştirici reçineler, polialdehitler, silika jel, vb. gibi taşıyıcılara adsorplanarak ekstrakorporal dolaşım sisteminde uzaklaştırılması esasına dayanır.

Hemoperfüzyon ilk kez 1964 yılında Yatzidis tarafından uygulanmıştır [67]. Daha sonra Dunea ve Kolff, hemoperfüzyonu üreli hastalarda denemişlerdir [68]. Bu çalışmalarda taşıyıcı olarak aktif karbon kullanılmıştır. Aktif karbonun klinik uygulamalarda gösterdiği ince partikül salımı gibi sorunların önüne geçmek için yine ilk kez Yatzidis tarafından aktif karbon granüller selüloz asetat ile kaplanmış ve bu partiküller ile doldurulmuş hemoperfüzyon kolonları akut ve kronik böbrek hastalarına uygulanmıştır [69]. Daha sonra yürütülen

çalışmalarda, aktif karbon ve diğer taşıyıcılar hem kan uyuşabilirliğini arttırmak hem de pratik uygulamalardaki salım sorunlarının önüne geçebilmek için çok değişik malzemelerle (akrilik polimerler, kollodion, naylon, poli(etilen glikol), jelatin, vb.) kaplanmıştır [70]. Fakat bu çalışmaların hepsinde kullanılan taşıyıcılar seçici olmayan malzemelerdir. Yani seçici olarak kandan istenilen molekülü uzaklaştırma yeteneğine sahip değildirler. Hemoperfüzyon tedavisinde günümüzde klasik taşıyıcıların yerini biyolojik ve/veya kimyasal olarak modifiye edilen seçici taşıyıcılar almaktadır.

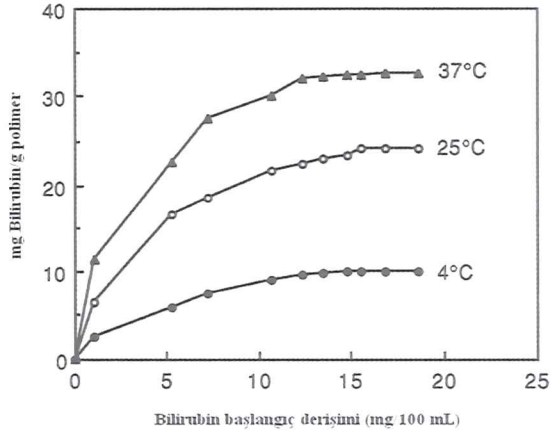
5.1.1. Hiperbilirubinemi Tedavisi

Karaciğer birçok metabolik olayda önemli rol oynar; karbonhidrat metabolizması, lipid metabolizması, protein sentezi, depolama, zehirsizleştirme ve retikulo-endotelial sistemde önemli görevleri vardır. Kan dolaşımındaki eritrositler yaşam süreleri sona erdiğinde, retikuloendotel sistem ve özellikle dalak içinde parçalanırlar. Serbest kalan hemoglobin genel protein havuzuna giren globin ve demir molekülünün çıkartılmasından sonra bilirubine çevrilen heme parçalanır. Demir yeniden kullanılır. Bu işlem sonucunda oluşan bilirubin karaciğere taşınır. Diğer bilirubin kaynakları arasında kemik iliğinde yıkılan olgunlaşmamış eritrositler, miyogloblin ve sitokromlar gibi hemoglobinle kimyasal olarak ilgili diğer maddeler bulunur. Karaciğere her gün yaklaşık olarak 300 mg bilirubin taşınır. Sağlıklı karaciğer hücreleri bu miktarın çok daha fazlasını işleyebilecek kapasitededir. Karaciğere taşınması sırasında bilirubin albümine bağlıdır ve suda çözünmez. Buna ankonjuge (veya sadece bilirubin) adı verilir ve albümine bağlı olması ve suda çözünmemesi nedeniyle idrarda bulunmaz. Normal plazma bilirubinin büyük bölümü bu biçimde bulunur. Karaciğer hücre membranına ulaşan bilirubin burada albuminden ayrılır ve hücre içine geçerek bağlayıcı proteinlere tutunur ve endoplazmik retikulum (mikrozomlar) taşınır. Burada bilirubin glukuronid veya konjuge bilirubin yapmak

üzere glukuronik asitle konjuge olur. Konjuge bilirubin karaciğer hücresinden safra kanallarına taşınır ve safra ile atılır. Konjuge bilirubin normal plazmada ya hiç bulunmaz veya çok küçük miktarlarda bulunur. Yüksek derişimde bulunan konjuge bilirubin plazma albuminine bağlı halde de bulunabilir. Bu bilirubin tipi suda erir ve idrarda görülür. Karaciğer, safra kesesi ve incebağırsak arasında bir tıkanıklık söz konusu olduğunda konjuge bilirubin kan dolaşımına karışır. Bilirubinin kanda ve dokularda birikmesi sonucunda hiperbilirubinemi oluşur. Hiperbilirubinemi beyinde kalıcı hasarlara ve hatta ölümlere neden olabilir. Hiperbilirubineminin tedavisinde kullanılan yöntemlerin başında ışık tedavisi "fototerapi" gelir. "Bronz bebek sendromu" gibi bazı yan etkiler söz konusu olmasına rağmen güvenli bir yöntemdir [71].

Bilirubinin kandan uzaklaştırılması amacıyla kullanılan ekstrakorporal dolaşım ile tedavide başlıca üç yaklaşım söz konusudur. Birinci yaklaşımda hemodiyaliz kullanılır. Bu sistemin en önemli dezavantajı yüksek maliyeti ve işlemin seçici olmamasıdır. Ayrıca kandan protein kayıpları söz konusudur. İkinci yaklaşımda plazma değişimi yöntemi kullanılır. Plazma değişimi ile tedavinin büyük hacimde taze donmuş plazma gerektirmesi ve yüksek maliyet yöntemin en önemli dezavantajlarıdır. Üçüncü tedavi yöntemi hemoperfüzyonda ise vücut dışına alınan kan bir kolondan geçirilerek bilirubin adsorpsiyon ile kandan uzaklaştırılır. Bu sistemlerde bilirubin uzaklaştırılması için ligand olarak polilisin, albumin ve polipeptit taşıyan agaroz, kitosan, sefaroze, poliamid taşıyıcılar kullanılmıştır [72].

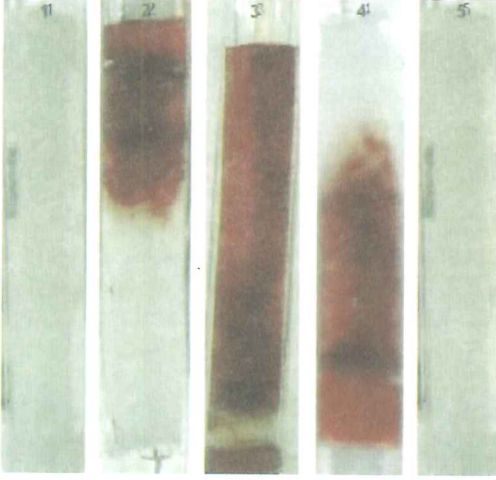
Literatürde ilk kez kandan bilirubin uzaklaştırmak amacıyla tarafımızca yapılan çalışmalarda Cibacron Blue F3GA (Şekil 3) takılı PHEMA taşıyıcılar kullanılmıştır [72].



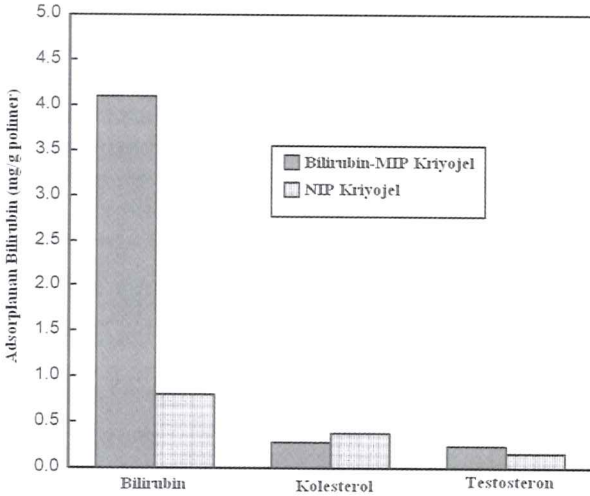
Şekil 24. Cibacron Blue F3GA takılı PHEMA mikrokürelere bilirubin adsorpsiyonu [72].

Şekil 23'de görüldüğü gibi birim taşıyıcı başına adsorplanan bilirubin miktarı sıcaklığın artması ile artış göstermektedir. En yüksek bilirubin adsorpsiyon miktarı 37.5 °C'de 32.5 mg bilirubin/g polimer olarak gerçekleşmiştir. Ayrıca, başlangıç bilirubin derişiminin artması ile adsorplanan bilirubin miktarı artış göstermektedir [72].

Hiperbilirubinemi tedavisi için son yıllarda moleküler baskılanmış taşıyıcılar da kullanılmıştır. Bölüm 3.2.4'de belirtilen önemli avantajlarından dolayı kriyojeller kan uygulamalarında oldukça kullanışlıdır (Şekil 25). Şekilden de görüldüğü gibi tam kan kriyojel kolondan hücreleri ayrılmaksızın rahatlıkla geçirilebilmektedir. Bu süreç sonunda herhangi bir hemoliz (hücre parçalanması) gözlenmemiştir. Bilirubin baskılanmış PHEMA temelli kriyojeller kandan bilirubin uzaklaştırılmasında kullanılmış ve 3.6 mg/g bilirubin adsorpsiyon miktarı elde edilmiştir. Hazırlanan kriyojellerin bilirubine karşı seçiciliğinin kolesterole göre 7.3 testosterona göre 3.2 kat fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 26) [58].



Şekil 25. Kriyojel kolondan kan akışı. (Kan hacmi: 1.0 mL; akış hızı: 1.0 mL/dk).



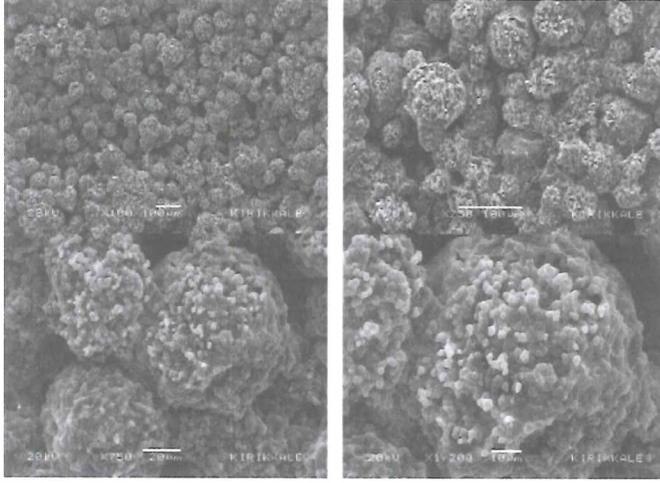
Şekil 26. Bilirubin ve yarışmacı moleküllerin MIP ve NIP kriyojele adsorpsiyonu.

5.1.2. Talasemi Tedavisi

Metallerin biyolojik olaylarda oynadıkları önemli roller bilinmekle ve bazıları gerekli elementler olarak sınıflandırılmakla birlikte, belirli bir derişimin üzerine çıktıklarında zararlı özellik göstermektedirler. Örneğin, genetik bir bozukluk (talasemi hastalığı gibi) veya yanlışlıkla aşırı miktarda demir alınması sonucu vücutta oluşan demir fazlalığı, kalp krizleri, şeker hastalığı, depresyon ve karaciğer bozukluğu gibi belirtilere yol açmaktadır [73]. Sürekli kan nakilleri sonucu oluşan veya akut gelişen demir fazlalığı için tek kullanılan yöntem “şelasyon” tedavisidir. Şelat oluşturuıcı sistemlerin demir fazlalığının tedavisinde olduğu kadar, çok sayıda hastalığın tedavisinde de (kanser, sıtma ve serbest radikallerin verdiği zararlar gibi) kullanılması söz konusudur. Günümüzde bu amaçlarla kullanılan tek klinik ilaç, doğal bir siderofor olan desferrioksamin B (DFO)'dir. Ancak bu ilaç; pahalı olması, uzun süreli infüzyon gerektirmesi, absorpsiyonunun düşük olması ve potansiyel olarak toksik olması gibi dezavantajlara sahiptir. Bu nedenle çok sayıda demir şelatlayıcı kimyasal madde denenmiş ve bunlar arasında en dikkate değerinin, iki dişli 3-hidroksi-2-metil-4(1H)-pridinon türevleri olduğu belirlenmiştir. Ne yazık ki, bu taşıyıcılarda da hastalardaki demir dengesini sağlamak için gerekli doz oldukça yüksektir ve çeşitli yan etkilere neden olmuştur. Demir fazlalığının tedavisinde çözünür şelatörlerin dezavantajlarının giderilmesi için, demir şelatlayıcı ligandların immobilizasyonu incelenmiştir. Çözünür şelat oluşturuıcılarla karşılaştırıldığında, bu reçineler, kararlılık, tekrar kullanılabilme ve biyolojik moleküllere vereceği minimum zarar nedeniyle üstünlüklere sahiptir [74].

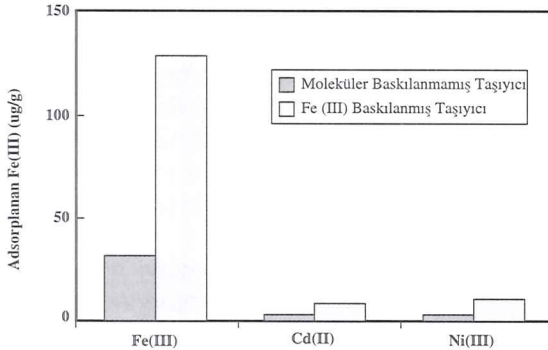
Bir çalışmamızda daha kararlı, demir uzaklaştırma kapasitesi, etkinliği ve seçiciliği artırılmış, tekrar kullanılabilen demir iyonları baskılanmış taşıyıcıların geliştirilmesi ve talasemi hasta plazmasından demir uzaklaştırılmasında kullanılabilirliği incelenmiştir. Demir iyonları fonksiyonel monomer olarak seçilen metakroil-L-sistein metil ester (MAC) ile kompleksleştirilmiş ve

HEMA ile polimerleştirilerek Fe(III) baskılanmış PHEMAC monolitler hazırlanmıştır [75].



Şekil 27. Fe(III) baskılanmış PHEMAC monolitlerin SEM görüntüsü.

Hazırlanan iyon baskılanmış taşıyıcının Fe(III) adsorpsiyon kapasitesi 150 µg/g'dır ve Fe(III) iyonlarına karşı seçiciliği Cd(II) iyonlarından 42.6, Ni(II) iyonlarından 36.1 kat daha fazla olarak bulunmuştur (Şekil 28).



Şekil 28. Fe(III) iyonlarının ve yarışmacı iyonların PHEMAC taşıyıcıya adsorpsiyonu.

5.1.3. Romatoid Artrit Tedavisi

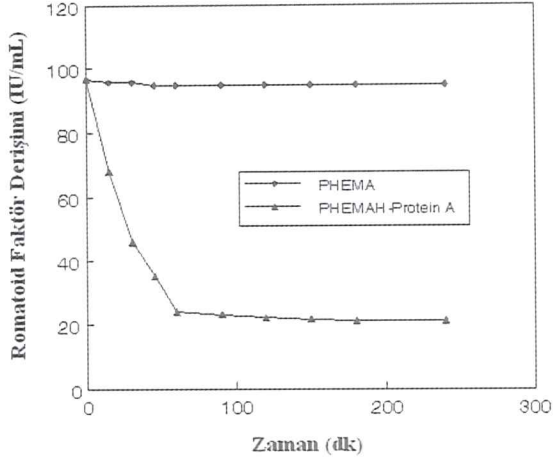
Romatoid Artrit (RA), eklemlerde ağrı, sertlik, şişme ve hareket zorluğu gibi rahatsızlıklara neden olan ve diğer organlarda da iltihaplanmalara neden olabilen kronik bir hastalıktır. RA'in sebebi tam olarak bilinmemekle beraber, son raporlarda, artrit ve eklem hasarlarına neden olan immünolojik ve iltihabi tepkimelerin etkili olduğu belirtilmiştir. Son araştırmalara göre, bazı insanların kalıtsal olarak RA oluşumuna eğilimli olduğu belirlenmiştir. Vücudun bağışıklık sisteminin RA'da önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. RA hastalarında anormal bir bağışıklık sistemi cevabı olduğundan RA bir otoimmün hastalık olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı bir bağışıklık sisteminde, beyaz kan hücreleri vücudu yabancı maddelerden korumak üzere antibadileri üretir. RA'lı hastalarda bağışıklık sistemi saldırgan yabancı madde ve vücudun kendi sağlıklı dokusu arasında ayırım yapamamaktadır. Bu yanlışlığın vücuttaki sonucuna bir örnek romatoid faktör olarak bilinir. Romatoid faktör, vücut tarafından üretilen normal antibadileri düzenlemekle sorumlu bir antibadidir. Romatoid faktör az miktarda bulunduğu normal olarak çalışırken, yüksek miktarlarda romatoid faktör içeren insanlarda bağışıklık sistemi bozuklukları gözlenmiştir. Bu nedenle RA teşhisinde ilk olarak ölçülen değerlerdendir. Genel olarak, rheumatoid faktör ne kadar yüksekse hastalık o derece şiddetli anlamına gelmektedir. RA genellikle genç erişkin çağdan orta yaşa doğru, 20 ile 45 yaş arasında ortaya çıkar. RA'nın teşhisi zordur çünkü ufak belirtilerle derece derece başlayabilir. Kan testleri ve röntgen sonuçları ilk başlarda normal olabilir. Hastalığın belirtileri, etkilenen eklemler ve diğer organların (örneğin, gözler, akciğerler ve deri vb.) tutulumu kişiden kişiye değişebilir [76].

Son 25 yılda, RA hastaları için tedavi yöntemleri oldukça gelişmiştir. Tedavinin ana amacı, belirtilerin ortadan kaldırılması ve hastanın yaşam kalitesini iyi düzeyde koruyabilmektir. RA tedavisinin başarılı olabilmesi için erken teşhis ve eklem hasarları oluşmadan önce etkili bir tedavi uygulanması gereklidir. Anti-

enflamatuvar ilaçlar ilk tercih olabilir. Fakat, eklemlerinde kalıcı ve uzun süreli şişlikler görülen hastalar için hastalığı modifiye edici ilaçlar kullanılır. Düşük doz kortikosteroidler belirtilerin kontrol altına alınabilmesi, eklem işlevinin sağlanması ve hastalığın ilerleyişinin yavaşlatılması amacıyla kullanılabilir. Eklem dışı organ tutulumu da varsa yüksek doz kortikosteroidler ve diğer ilaçlar kullanılabilir.

Plazma değişimi uzun yıllar, plazmadaki muhtemel patojen maddelerin uzaklaştırılması için kullanılan tek yöntem olmuştur. Ancak, plazma değişimi RA hastalarında kısmen olumsuz sonuçlar vermiştir. Plazma değişimi seçimli olmayan bir yöntemdir ve birkaç litre plazmanın uzaklaştırılmasını (ortalama 60 ml/kg) ve yerine eşdeğer miktarda albümin takviyesini gerektirir. İmmünoadsorpsiyon, plazma proteinlerinde (albümin ve pıhtılaşma faktörleri gibi) kayıplara neden olmayan daha seçimli bir yöntemdir. Bunun yanı sıra, immünoadsorpsiyon plazma bileşenleri takviyesi gerektirmedikinden hastalar bu ürünlerden kaynaklanabilecek potansiyel yan etkilere maruz kalmamış olur. Amerikan Besin ve İlaç Dairesi (FDA) 1999'da protein A-immünoadsorpsiyon (Prosorba®) kolonunun dirençli RA hastalarında kullanımına lisans vermiştir. Protein A molekül ağırlığı yaklaşık 42.000 Da olan, beş immünoglobülin bağlama bölgesine sahip *Staphylococcus aureus* hücre duvarı proteindir. Protein A'nın en önemli özelliği herhangi bir kaynaktan immünoglobülinlerin Fc kısımlarına karşı yüksek, Fab kısımlarına ise düşük afinite göstermesidir [76].

Grubumuzca RA tedavisine yönelik taşıyıcı geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışmada literatürdeki diğer çalışmalardan farklı olarak RA hasta plazmasından IgM-antibadilerin uzaklaştırılması amacıyla Protein A taşıyan PHEMA kriyojeller hazırlanmıştır [57]. Hazırlanan taşıyıcının IgM adsorpsiyon miktarı 42.7 mg/g olarak gözlenmiştir (Şekil 29). Şekil 29'dan da görüldüğü gibi hazırlanan yeni taşıyıcı ile yaklaşık olarak 1 saat sürede IgM antibadilerin büyük bölümü kandan uzaklaştırılmıştır.



Şekil 29. Zamana bağlı olarak plazmadan Romatoid Faktör uzaklaştırılması.

5.1.4. Sistemik Lupus Eritematosus (SLE) Tedavisi

SLE kaynağı tam olarak bilinmeyen, bağışıklık sisteminin oluşturduğu bir hastalıktır. SLE genellikle kadınlarda görülmektedir. Her 700 kadından birisi 20-60 yaşları arasında bu hastalığa yakalanırken, erkeklerde karşılaşılma olasılığı kadınlara oranla 10 kat daha düşüktür. En önemli klinik göstergeleri, deri ve böbreklerde neden olduğu bozukluklardır. Tedavide geç kalınırsa hemolitik anemi ve merkezi sinir sisteminde de önemli tahribata neden olmaktadır. SLE hastalığının temel nedeni, vücudun bağışıklık sisteminin henüz tam olarak bilinmeyen sorunlar yüzünden kendi DNA'sına karşı patojen antibadiler oluşturmasıdır. SLE hastalarında yapılan serolojik araştırmalar sonucu plazmada başta anti-DNA antibadileri, ribonükleoproteinler, histonlar, vb. olmak üzere çok sayıda değişik patojen antibadiler bulunmuştur. Genetik faktörler de SLE hastalığına katkıda bulunmaktadır. Hasta plazmasındaki anti-DNA antibadilerinin miktarı, hastalığın düzeyi ve neden olduğu organ bozukluklarının önemli bir göstergesidir. Bu nedenle

SLE tedavisi gören hastalardan, patojenik anti-DNA antiadilerinin uzaklaştırılması gerekmektedir. SLE hastalığının tedavisinde, DNA takılı taşıyıcıların kullanımı ve anti-DNA antiadilerin hasta plazmasından seçici olarak uzaklaştırılması son yıllarda üzerinde durulan konuların başında gelmektedir [77].

Literatürde ilk defa grubumuzca manyetik PHEMA mikro taşıyıcılara DNA takılarak manyetik olarak akışkanlaştırılmış yatakta SLE hasta plazmasından anti-DNA antiadilerinin uzaklaştırılma özellikleri belirlenmiştir. Buna göre hazırlanan taşıyıcıya SLE hasta plazmasından 87.6 mg/g anti-DNA antiad adsorpsiyonu gözlenmiştir [78].

Çizelge 5 farklı miktarlarda DNA taşıyan manyetik PHEMA taşıyıcının anti-DNA antiad adsorplama miktarlarını göstermektedir. Görüldüğü gibi DNA içermeyen polimerik taşıyıcıya seçici olmayan adsorpsiyon çok düşüktür (0.19 mg anti,-DNA antiad/g polimer). Artan yüzey DNA derişimiyle adsorplanan anti-DNA antiad miktarı da artış göstermektedir.

Çizelge 5. SLE hasta plazmasından anti-DNA antiad adsorpsiyonu.

Bağlanan DNA (mg/g)	Adsorplanan anti-DNA antiad (mg/g)
0.00	0.19 ± 0.02
0.70 ± 0.06	15.64 ± 1.23
0.85 ± 0.09	20.54 ± 1.26
1.12 ± 0.11	28.33 ± 0.43
1.20 ± 0.14	30.94 ± 2.14
1.79 ± 0.12	37.79 ± 1.64
2.30 ± 0.17	53.09 ± 2.14
3.27 ± 0.30	63.76 ± 2.39
4.40 ± 0.20	87.60 ± 3.70

5.1.5. Hiperkolesterolemi Tedavisi

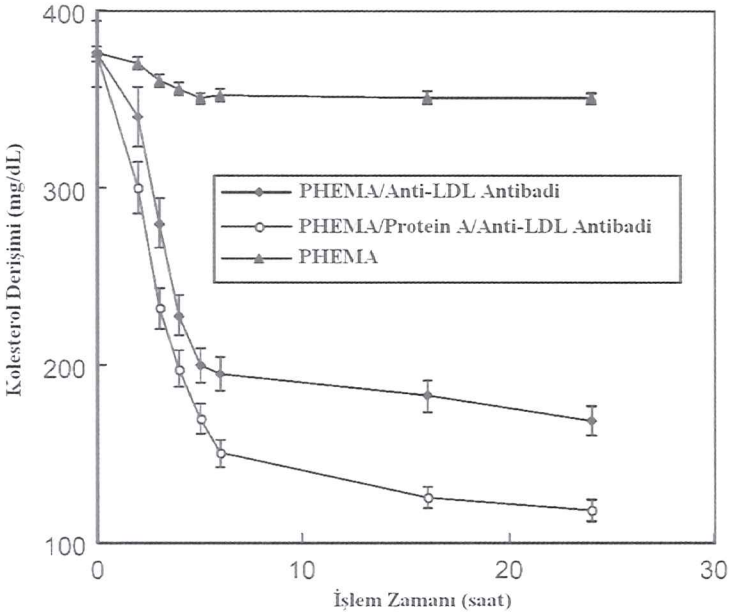
Son yıllarda kalp ve damar hastalıklarının lipoproteinler ve kolesterol metabolizması ile yakın ilişkisi ayrıntılı olarak tartışılmıştır. Bu çalışmalar, kolesterolün arter duvarlarında birikerek aterosklerozis oluşumuna neden olduğunu göstermiştir. Kolesterol birikimi kandaki düşük yoğunluklu lipoprotein düzeyi (LDL) yüksek ise artar ve bu da aterosklerozisi hızlandırır. Birçok durumda belirtiler görülmeden aterosklerozis önemli ölçüde ilerler ve koroner hastalıklar ani olarak ortaya çıkar ve ölüme neden olur [79].

LDL'nin kandan uzaklaştırılması için diyet ve ilaçla tedavinin yanı sıra daha etkili uzaklaştırma sağlayan bir yaklaşım ekstrakorporal sistemle tedavidir. Kolesterol/lipoproteinlerin plazmadan uzaklaştırılması için ilk yaklaşım olan plazma değişimi bazı dezavantajlarına rağmen halen kullanılmakta olan bir yöntemdir. Tüm plazmanın değişimi zorluğu ve maliyeti nedeniyle bu yöntemin kısıtlamaları mevcuttur. Basamaklı filtrasyon veya ikili filtrasyon plazmaferez, plazma değişimine göre daha seçimli olarak kolesterol uzaklaştırılmasına olanak verir. Bu yöntemde molekül ağırlığı 250-400 kD'nin üzerinde olan proteinlerden önemli kayıplar söz konusudur (fibrinojen, HDL ve immünoglobülin M). Bu kayıpları karşılamak amacıyla hastaya destek çözeltilerinin verilmesi gerekebilir. Dolayısıyla bu tedavi yöntemi de seçici taşıyıcı teknikleri ile karşılaştırıldığında bazı dezavantajlara sahiptir. Hemoperfüzyon sistemlerinde LDL uzaklaştırılması için ligand olarak dekstran sülfat ve heparin taşıyan seçici taşıyıcılar da kullanılmaktadır [80].

Grubumuzca hiperkolesterolemi hasta plazmasından LDL'nin seçimli olarak uzaklaştırılmasına yönelik çalışmalar yürütülmektedir. Bu amaçla PHEMA mikro taşıyıcılara anti-LDL antibadileri takılarak plazmadan LDL uzaklaştırma özellikleri incelenmiştir [81]. Anti-LDL antibadilerin LDL bağlama

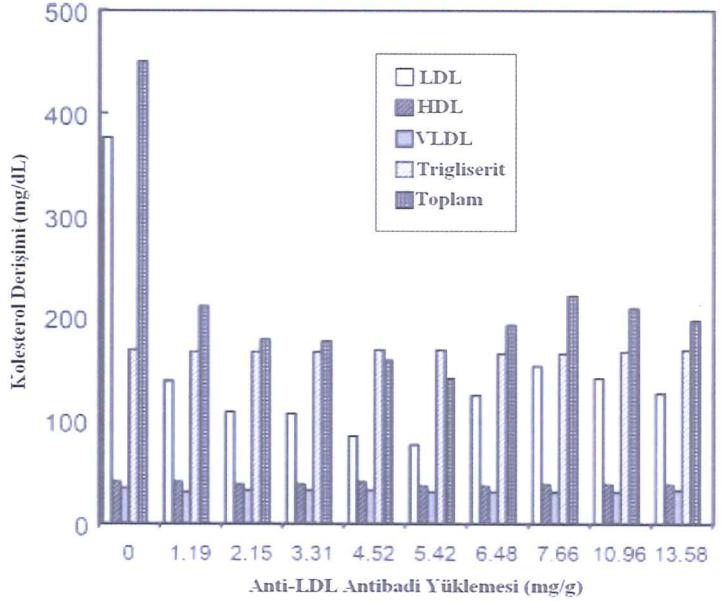
kapasitesini ve dolayısıyla taşıyıcının etkinliğini artırmak üzere anti-LDL antibadiler PHEMA kürelere Fc kısımlarından yönlendirilerek bağlanmalarını sağlayan protein A üzerinden takılmıştır.

Şekil 30'da görüldüğü gibi hiperkoelsterolemik plazmadaki toplam kolesterol derişimi zamanla azalmaktadır. Protein A üzerinden yönlendirilerek takılan anti-LDL antibadileri içeren taşıyıcıların kolesterol uzaklaştırılma etkinliği, gelişigüzel anti-LDL antibadi bağlanmış taşıyıcılardan daha fazladır.



Şekil 30. Hiperkoelsterolemik insan plazmasından kolesterol uzaklaştırılması.

Geliştirilen taşıyıcının LDL'ye karşı seçiciliği, HDL, LDL, VLDL ve trigliserit adsorpsiyon miktarları karşılaştırılarak incelenmiştir. Şekil 31'den de görüldüğü gibi, anti-LDL antibadi takılı taşıyıcı seçici olarak kandan LDL'yi uzaklaştırmıştır.



Şekil 31. PHEMA/Protein A/Anti-LDL Antibadi taşıyıcıya lipoprotein ve trigliserit adsorpsiyonu.

6. SONUÇ

Biyoayırma alanındaki ilerlemeler yeni yöntemler ve malzemelerin geliştirilmesiyle bağlantılıdır. Ayırmanın temel prensipleri büyük oranda aynı kalmakla birlikte, daha hızlı işlem zamanları sağlayan enstrümantasyon ve analitik araçlarda gelişmeler söz konusudur. Bu gelişmeler arasında saflaştırma işlemleri için yeni, yüksek performanslı destek malzemelerinin hazırlanması önemli yer tutmaktadır. Yeni membran temelli malzemeler, modüller ve işlem tasarımları, seçicilikleri artırılarak yüksek kapasite ile kullanılmaktadır. Destek malzemesi geleneksel küre-şeklindeki jellerle sınırlı kalmayıp, monolitler, diskler ve kriyojeller gibi sürekli kromatografi malzemeleri kullanılmaya başlanmıştır. Gözenekli destek malzemelerinde ortaya çıkan difüzyon kısıtlamaları süpermakrogözenekli yapıların geliştirilmesiyle giderilmeye çalışılmıştır.

Polimerik destek malzemeleri kadar, afinite ayırma işlemleri için daha seçici ve etkin ligandların geliştirilmesi de yoğun olarak araştırma konusu olmuştur. Peptidler, gen parçaları, antibadiler gibi biyomoleküller biyoafinite ligandı olarak kullanılmıştır. Bu ligandların moleküler modellerinden biyomimetik ligandlar oluşturulmuştur. Yapay kimyasal maddeler (triazin boyaları gibi) çok sayıda proteinin saflaştırılması için başarı ile kullanılmıştır.

Proteinlere olan gereksinimin sürekli olarak artması, düzenleyici kurallar ve ekonomik konular, şüphesiz yeni malzemelerin geliştirilmesi için sürücü kuvvet olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Lowe, C. R. (2001) Combinatorial approaches to affinity chromatography. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **5**, 248-256.
2. Takeuchi, T., Haginaka, J. (1999) Separation and sensing based on molecular recognition using molecularly imprinted polymers. *J. Chromatogr. B*, **728**, 1-20.
3. **Denizli, A.**, Pişkin, E., (2001) Dye-ligand affinity systems. *J. Biochem. Biophys. Methods*. **49**, 391-416.
4. Özkara, S., Yavuz, H., Patır, S., Arıca, Y., **Denizli, A.** (2002) Separation of human-immunoglobulin-G with L-histidine immobilised pseudo-specific bioaffinity adsorbents. *Sep. Sci. Technol.* **37**, 717-731.
5. Garipcan, B., **Denizli, A.** (2002) A novel chromatographic affinity support material for separation of immunoglobulin-G from human plasma. *Macromol. Biosci.* **2**, 135-144.
6. Hage, D. S. (ed.) (2006) Handbook of Affinity Chromatography, Taylor & Francis Group, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
7. Wilchek, M., (1985) Affinity chromatography: A practical approach, IRL Press, USA.
8. Lowe, C. R. (1996) Affinity chromatography and related techniques: Perspectives and trends. *Adv. Mol. Cell Biol.* **15**, 513-522.
9. Anspach, F. B. (2004) Affinity Chromatography, in: Chromatography (6th edition) Fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods: part A: Fundamentals and techniques (ed. E. Heftman). *J. Chromatogr. Lib.* **69A**, 139-169.
10. Wilchek, M., Miron, T. (1999) Thirty years of affinity chromatography *React. Funct. Polym.* **41**, 263-268.
11. Türkmen, D., Yavuz, H., **Denizli, A.** (2006) Synthesis of tentacle type magnetic beads as immobilized metal chelate affinity support for Cytochrome c adsorption. *Int. J. Biol. Macromol.* **38**, 126-133.

12. Özcan, A. A., Say, R., **Denizli, A.**, Ersöz, E. (2006) L-Histidine imprinted synthetic receptor for biochromatography applications. *Anal. Chem.* **78**, 7253-7258.
13. Bereli, N., Akgöl, S., Yavuz, H., **Denizli, A.** (2005) Antibody purification by Concanavalin A affinity chromatography. *J. Appl. Polym. Sci.* **97**, 1202-1208.
14. **Denizli, A.** (2002) Preparation of immuno-affinity membranes for cholesterol removal from human plasma. *J. Chromatogr. B.*, **772**, 357-367.
15. Uzun, L., **Denizli, A.** (2002) Metal-chelated polyamide hollow fibres for human serum albumin separation. *J. Appl. Polym. Sci.* **86**, 3346-3354.
16. Öncel, Ş., Uzun, L., Garipcan, B., **Denizli, A.** (2005) Synthesis of phenylalanine containing hydrophobic beads for lysozyme adsorption. *Ind. Eng. Chem. Res.* **44**, 7049-7056.
17. Bereli, N., Andaç, M., Baydemir, G., Say, R., Galaev, I. Y., **Denizli, A.** (2008) Protein recognition via ion-coordinated molecularly imprinted supermacroporous cryogels. *J. Chromatogr. A.*, **1190**, 18-26.
18. Altıntaş, E. B., **Denizli, A.** (2006) Efficient removal of albumin from human serum by monosize dye affinity beads. *J. Chromatogr. B.*, **832**, 216-223.
19. Babaç, C., Yavuz, H., Galaev, I. Y., Pişkin, E., **Denizli, A.** (2006) Binding of antibodies to Concanavalin A-modified monolithic cryogel. *React. Funct., Polym.*, **66**, 1263-1273.
20. Pommerening, K., Kuhn, M., Jung, W., Buttgereit, K., Mohr, P., Stamberg, J., Benes, M. (1979) Affinity chromatography of haemoproteins: 1. Synthesis of various imidazole containing matrices and their interaction with hemoglobin. *Int. J. Biol. Macromol.*, **1**, 79-88.
21. Tuncel, A., **Denizli, A.**, Purvis, D., Lowe, C. R., Pişkin, E. (1993) Cibacron Blue-F3GA attached monosize polyvinylalcohol-coated polystyrene microspheres for specific albumin adsorption. *J. Chromatogr. A.* **634**, 161-168.

22. **Denizli, A.**, Köktürk, G., Yavuz, H., Pişkin, E. (1999) Dye ligand column chromatography: albumin adsorption from aqueous media and human plasma with poly(EGDMA-HEMA) microbeads. *J. Appl. Polym. Sci.* **74**, 2803-2810.
23. Kassab, A., Yavuz, H., Odabaşı, M., **Denizli, A.** (2000) Human serum albumin chromatography by Cibacron Blue F3GA-derived microporous polyamide hollow fibre affinity membranes. *J. Chromatogr. B.*, **746**, 123-132.
24. Yavuz, H., Duru, E., Genç, Ö., **Denizli, A.** (2003) Cibacron Blue F3GA incorporated poly (methylmethacrylate) beads for albumin adsorption in batch system. *Coll. Surf. A: Phsicochem. Eng. Aspects* **223**, 185-193.
25. Yavuz, H., **Denizli, A.** (2004) Dye affinity hollow fibers for albumin purification. *Macromol. Biosci.* **4**, 84-91.
26. Özkara, S., Garipcan, B., Pişkin, E., **Denizli, A.** (2003) N-Methacryloyl-(L)-histidinemethylester carrying pseudospecific affinity sorbent for immunoglobulin-G isolation from human plasma in column system. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **14**, 761-776.
27. Garipcan, B., Andaç, M., Uzun, L., **Denizli, A.** (2004) Methacryloylamidocysteine fuctionalized poly(2-hydroxyethyl methacrylate) beads and its design as a metal chelate affinity support for human serum albumin adsorption. *React. Funct., Polym.*, **59**, 119-128.
28. **Denizli, A.**, Rad, A. Y., Pişkin, E. (1995) Protein A immobilized polyhydroxyethylmethacrylate beads for affinity sorption of human Immunoglobulin G. *J. Chromatogr. B.* **668**, 13-19.
29. **Denizli, A.** (1999) Heparin immobilized poly(2-hydroxyethyl methacrylate) based microspheres. *J. Appl. Polym. Sci.* **74**, 655-662.
30. Clairbois, A. S., Letourneur, D., Muller, D., Jozefonvicz, J. (1998) High- performance affinity chromatography fort he purification of heparin-binding proteins from detergent-solubilized smooth muscle cell membranes. *J. Chromatogr. B.* **706**, 55-62.

31. Perçin, I., Yavuz, H., Aksöz, E., **Denizli, A.** (2009) N-Acetyl-D-galactosamine specific lectin isolation from soyflour with poly(HPMA-GMA) beads. *J. Appl. Polym. Sci.* **111**, 148-154.
32. Wilchek, M., Miron, T., Kohn, J. (1984) Methods in Enzymol., 104, (ed. W. B. Jacoby) pp. 3-55, Academic Press, New York, USA.
33. Cuatrecasas, P., Parikh, I. (1972) Adsorbents for affinity chromatography. Use of N-hydroxysuccinimide esters of agarose. *Biochemistry* **11**, 2291-2299.
34. Groman, E.V., Wilchek, M. (1987) Recent developments in affinity chromatography supports. *Trends Biotechnol.* **5**, 220-224.
35. Wilchek, M, Miron, T., Knudsen, K. I. (1994) Improved method for preparing N-hydroxysuccinimide ester-containing polymers for affinity chromatography. *Bioconjugate Chem.* **5**, 491-492.
36. Affinity Chromatography Principles and Methods Handbook (1988) Pharmacia, Uppsala, Sweden, pp. 87-88.
37. Turkova, J. (1993) Bioaffinity Chromatography, 2nd ed. Elsevier, The Netherlands.
38. Tamahkar, E., Babaç, C., Kutsal, T., Pişkin, E., **Denizli, A.** (2010) Bacterial cellulose nanofibers for albumin depletion from human serum. *Proc. Biochem.* **45**, 1713-1719.
39. **Denizli, A.** (1992) Doktora Tezi: Hemoperfüzyon İçin Spesifik Sorbentler, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
40. Kiremitçi, M. (1988) Doktora Tezi: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
41. Tuncel, A. (2010) Eş boyutlu partikül üretimi için polimerizasyon yöntemleri. *Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler* içinde. (Ed. **A. Denizli**, İ. Küfrevioğlu), s. 61-72. Pozitif Matbaacılık Ltd.
42. Kesting R. E. (1985) Membrane polymers., Ch. 4. In *Synthetic polymeric membranes: A structural perspective* 2nd Ed., pp. 106-179, Wiley, New York.

43. Frommer, J. E., Chance, R. R. (1986) Electrically conducting polymers In: *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering* Vol. 5 (Eds: H. F. Mark, N. M. Bikales, C. G. Overberger, G. Menses, J. I. Kroschwitz), pp 462-507. Wiley. New York.
44. Sourirajan, S. (1978) The science of reverse osmosis-mechanisms, membranes, transport and applications. *Pure Appl. Chem.* **50**, 593-615.
45. Svec, F., Frechet, J. M. J. (1992) Continuous rods of macroporous polymer as high-performance liquid chromatography separation media. *Anal. Chem.* **64**, 820-822.
46. Andaç, M., Uzun, L., **Denizli, A.** (2010) Yeni nesil polimerik sistemler I: Monolitler (Ed. **A. Denizli**, İ. Küfrevioğlu) *Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler* içinde, s. 39-51. Pozitif Matbaacılık Ltd.
47. Unger, K. K. (1990) Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques. Dekker, New York, USA.
48. Xie, S., Svec, F., Frechet, J. M. J. (1999) Design of reactive porous polymer supports for high throughput bioreactors: poly(2-vinyl-4,4-dimethylazlactone-co-acrylamide-co-ethylene dimethacrylate) monoliths. *Biotechnol. Bioeng.* **62**, 30-35.
49. Bencina, M., Podgornik, A., Strancar. A. (2004) Characterization of methacrylate monoliths for purification of DNA molecules. *J. Sep. Sci.* **27**, 801-810.
50. Svec, F. (2004) Preparation and HPLC applications of rigid macroporous organic polymer monoliths. *J. Sep. Sci.* **27**, 747-766.
51. Ikegami, T., Tanaka, N. (2004) Monolithic columns for high-efficiency HPLC separations. *Cur. Opin. Chem. Biol.*, **8**, 527-533.
52. Cabrera, K. (2004) Applications of silica-based monolithic HPLC columns. *J. Sep. Sci.* **27**, 843-852.

-
53. Viklund, C., Ponten, E., Glad, B., Irgum, K., Horsted, P., Svec, F. (1997) "Molded" macroporous poly(glycidyl methacrylate-co-trimethylolpropane trimethacrylate) materials with fine controlled porous properties: preparation of monoliths using photoinitiated polymerization. *Chem. Mater.* **9**, 463-471.
 54. Yu, C., Svec, F., Frechet, J. M. J. (2000) Towards stationary phases for chromatography on a microchip: molded porous polymer monoliths prepared in capillaries by photoinitiated in situ polymerization as separation media for electrochromatography. *Electrophoresis* **21**, 120-127.
 55. Rohr, T., Hilder, E. F., Donovan, J. J., Svec, F., Frechet, J. M. J. (2003) Photografting and the control of surface chemistry in three-dimensional porous polymer monoliths. *Macromol.* **36**, 1677-1684.
 56. Meyers, J. J., Liapis, A. I. (1999) Network modeling of the convective flow and diffusion of molecules adsorbing in monoliths and in porous particles packed in a chromatographic column. *J. Chromatogr. A* **852**, 3-23.
 57. Alkan, H., Bereli, N., Baysal, Z., **Denizli, A.** (2009) Antibody purification with protein A attached supermacroporous poly(hydroxyethyl methacrylate) cryogel. *Biochem. Eng. J.* **45**, 201-298.
 58. Baydemir, G., Bereli, N., Andaç, M., Say, R., Galaev, I.Y., **Denizli, A.** (2009) Supermacroporous poly(hydroxyethyl methacrylate) based cryogel with embedded bilirubin imprinted particles. *React. Funct. Polym.* **69**, 36-42.
 59. Yılmaz, F., Bereli, N., Yavuz, H., **Denizli, A.** (2009) Supermacroporous hydrophobic affinity cryogels for protein chromatography. *Biochem. Eng. J.* **43**, 272-279.
 60. Baydemir, G., Bereli, N., Andaç, M., Say, R., Galaev, I. Y., **Denizli, A.** (2009) Bilirubin recognition via molecularly imprinted supermacroporous cryogels. *Coll. Surf. B* **68**, 33-38.
 61. Demiryas, N., Tüzmen, N., Galaev, I. Y., Pişkin, E., **Denizli, A.** (2007) Poly(acrylamide-allyl glycidyl ether) cryogel as a

- stationary phase in dye affinity chromatography. *J. Appl. Polym. Sci.* **105**, 1808-1816.
62. Plieva, F. M., Savina, I. N., Deraz, S., Andersson, J., Galaev, I.Y., Mattiasson, B. (2004) Characterization of supermacroporous monolithic polyacrylamide based matrices designed for chromatography of bioparticles. *J. Chromatogr. B* **807**, 129-137.
 63. Plieva, F. M., Andersson, J., Galaev, I. Y., Mattiasson B. (2004) Characterization of polyacrylamide based monolithic columns. *J. Sep. Sci.* **27**, 828-836.
 64. Bereli, N., Baydemir, G., **Denizli, A.** (2010) Yeni nesil polimerik sistemler II: Kriyojeller. *Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler içinde* (Ed. A. Denizli, İ. Küfrevioğlu), s. 53-59. Pozitif Matbaacılık Ltd.
 65. Komiya, M., Takeuchi T., Mukawa, T., Asanuma, H. (2003) Molecular Imprinting from Fundamentals to Applications, Wiley-VCH, New York, USA.
 66. Say, R. (2010) Moleküler baskılanmış polimerler ve biyokromatografi uygulamaları. *Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler içinde* (Ed. A. Denizli, İ. Küfrevioğlu), s. 117-147. Pozitif Matbaacılık Ltd.
 67. Yatizidis, H. (1964) Recherches sur l'epuration extra renale a l'aide du charbon actif. *Nephron* **1**, 310-324.
 68. Dunea, G, Kolff, W. J. (1965) Clinical experience with the Yatizidis charcoal artificial kidney. *Transactions-Am. Soc. Artif. Int. Organs* **11**, 178-182.
 69. Yatizidis, H. (1972) Activated charcoal rediscovered. *British Medical Journal* **4** (5831) 51.
 70. Andrade, J. D., Kopp, K., Van Wagenen, R., Chen, C., Kolff, W. J. (1972) Dialysis Renal Transplant. Proc. Conf., 9th, 290, Pitman Publishing, USA.
 71. Ostrow, J. D. (1986) Bile Pigments and Jaundice. Metabolic and Medical Aspects, Marcel Dekker, New York.
 72. **Denizli, A.**, Kocakulak, M., Pişkin, E. (1998) Bilirubin removal from human plasma in a packed bed column system with dye-affinity microbeads. *J. Chromatogr. B.* **707**, 25-31.

-
73. Crichton, R. R. (1991) Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism, Ellis Horwood Ltd, UK.
 74. Mahoney, J. R., Hallway, P. E., Hedlund, B. E., Eaton, J. W. (1989) Acute iron poisoning. Rescue with macromolecular chelators. *Am. Soc. Clin. Invest.* **84**, 1362-1366.
 75. Özkara, S., Say, R., Andaç, C., **Denizli, A.** (2008) An ion-imprinted monolith for in-vitro removal of iron out of human plasma with beta thalassemia. *Ind. Eng. Chem. Res.* **47**, 7849-7856.
 76. Bingham, S. J., Moore, J. J. (2004) Rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, **17**(2), 263-276.
 77. Schneider, M., Berning, T., Waldendorf, M., Glaser, J., Gerlach, U. (1990) Immunoabsorbent plasma perfusion in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* **17**, 900-907.
 78. Odabaşı, M., **Denizli, A.** (2001) Polyhydroxy ethylmethacrylate based magnetic DNA-affinity beads for anti-DNA antibody removal from systemic lupus erythematosus patient plasma. *J. Chromatogr. B.*, **760**, 137-148.
 79. Mabuchi, H., Sakai, T., Sakai, Y., Yoshimura, A., Watanabe, A., Wakasugi, T., Koizumi, J., Takeda, R., (1988) Reduction of serum cholesterol in heterozygous patients with familial hypercholesterolemia. Additive effects of compactin and cholestyramine. *N. Engl. J. Med.* **308**, 609-613.
 80. Blaha, M. (2003) Extracorporeal LDL-cholesterol elimination in the treatment of severe familial hypercholesterolemia. *Acta Medica* **46**, 3-7.
 81. Yavuz, H., **Denizli, A.** (2005) Immunoabsorption of cholesterol on protein A oriented beads. *Macromol. Biosci.* **5**, 39-48.

ADİL DENİZLİ'NİN ÖZGEÇMİŞİ

Ankara'da, 1962'de doğan Adil Denizli, 1985'te Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nden Lisans derecesini almış, 1994'te Doçent, 2000 yılında Profesör olmuştur.

Prof. Dr. Adil Denizli'nin araştırma konuları arasında; İlaçların Kontrollü Salımı Teknolojisi, Polimer Teknolojisi, Biyokimya, Biyomateryaller, Gıda Teknolojisi, Doku Mühendisliği, Çevre Teknolojisi ile Membran Teknolojisi yer almaktadır.

1998 yılında Mühendislik Bilimleri alanında TÜBİTAK Teşvik Ödülü, 2006'da TÜBİTAK Bilim Ödülü ve aynı yıl *Popüler Bilim Dergisi* Temel Bilim Ödülü'ne layık görülen Prof. Denizli, 1999 yılında TÜBA asosiyer üyeliğine, 2007'de asli üyeliğe seçilmiştir.

Ayrıca Türkiye Kimya Mühendisleri Odası (KMO), Türkiye Kimya Derneği, Türkiye Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği (ANKEM), International Society for Artificial Cells and Immobilization Biotechnology, (Kanada), TEMA "Türkiye Erozyonla Mücadele, Ağaçlandırma ve Doğal Varlıkları Koruma Vakfı üyesidir.

Prof. Dr. Adil Denizli halen Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığını yürütmektedir.

TÜRKİYE BİLİMLER AKADEMİSİ YAYINLARI VE FİYATLARI

TÜBA BİLİM VE DÜŞÜN DİZİSİ

Bor Madenlerinin Oluşumu, Ortamları, Türkiye'nin Potansiyeli ve Ekonomimizdeki Yeri	12,00 TL
Türkiye Bilimler Akademisi Bilim Raporu 2009	-
İmkânlarımızın Ötesinde Yaşam, Doğal Kaynaklar ve İnsanın Refahı (Tıpkıbasım) Binyılın Ekosistem Değerlendirme Kurulu Bildirisi	-
Türkiye'de Üniversite Anlayışının Gelişimi II (1961-2007)	20,00 TL
Bilim Etiği El Kitabı- Editör: Ayşe ERZAN	6,00 TL
Tıbbi Araştırmalarda İnsan Katılımcıların Korunması ve Etik İlkeler - İsmail H. ULUS	6,00 TL
Geleceğin Sürdürülebilir Enerjisine Doğru Yolu Aydınlatalım (Tıpkı basım) AkademilerArası Konsey Raporu	-
Türkiye'de Üniversite Anlayışının Gelişimi 1861-1961	15,00 TL
Bilimsel Araştırmada Etik ve Sorunları	TÜKENDİ
İslam'da Bilim ve Teknik - Fuat SEZGİN	95,00 TL
21. Yüzyılda Bilim İnsanı Yetiştirme Üzerine Öneriler (2.Baskı)	7,00 TL
Eğitim Üzerine Düşünmek (3.Baskı) - İlhan TEKELİ	10,00 TL
Marmara Denizinde Deprem Potansiyeli - Naci GÖRÜR	6,00 TL
Kanser ve Etik (İkinci Baskı)	20,00 TL
Denemeler Eleştiriler - Orhan BURİAN	15,00 TL
Hekimlik ve Türkçe (Türkçe Tıp Terimleri Çalıştay)	6,00 TL
Geçmişten Geleceğe Türk Bilim ve Teknoloji Politikaları	8,50 TL
Kanser Eğitimi - TÜBA Kanser Çalışma Grubu Adına Ayhan O. ÇAVDAR, Hakan AKBULUT	6,00 TL
Çinkonun İnsan Sağlığı Üzerindeki Rolü Ananda S. PRASAD	8,50 TL
Türkiye Cumhuriyeti'nin 75. Yılında Bilim "Bilanço 1923-1998"	7,50 TL
Ulusal Toplantısı I. Kitap I. Cilt	
Türkiye Cumhuriyeti'nin 75. Yılında Bilim "Bilanço 1923-1998"	7,50 TL
Ulusal Toplantısı I. Kitap II. Cilt	

Türkiye Cumhuriyeti'nin 75. Yılında Bilim "Bilanço 1923-1998" Ulusal Toplantısı II. Kitap I. Cilt	5,00 TL
Türkiye Cumhuriyeti'nin 75. Yılında Bilim "Bilanço 1923-1998" Ulusal Toplantısı II. Kitap II. Cilt	5,00 TL
Türkiye'de Bunalım ve Demokratik Çıkış Yolları	TÜKENDİ
Bilim ve Yaratılışçılık (2.Baskı)	6,00 TL
Amerikan Ulusal Bilimler Akademisinin Görüşü Sağlık Bilimleri, Mühendislik ve Temel Bilimlerde "Türkiye'nin Uluslararası Atıf Dizindeki Yeri 1973-1999"	TÜKENDİ
Türkiye'de Sosyal Bilimlerin Uluslararası Yayın Performansı	2,00 TL
Sosyal Bilimler Atıf Dizini'nde (SSCI) Türkiye (1970 -1999)	TÜKENDİ
21. Yüzyılda Sürdürülebilirliğe Geçiş	1,00 TL
Bilgi Toplumuna Geçiş Sorunsallar/ Görüşler, Yorumlar/Eleştiriler ve Tartışmalar	12,50 TL

TÜBA BİLİM EĞİTİMİ DİZİSİ

Marie Curie'den Dersler (Tıpkıbasım)

-

TÜBA AKADEMİ FORUMU DİZİSİ

Akademi Forumu 1

Talat HALMAN 21. Yüzyılda Üniversite ve Kültür (3.Baskı) 3,50 TL

Akademi Forumu 2

Halil İNALCIK - Tarih ve Akademi (3.Baskı) 4,00 TL

Akademi Forumu 3

Kemal KURDAŞ

Türkiye Ekonomisindeki Çöküş ve Geleceğe Bir Bakış **TÜKENDİ**

Akademi Forumu 4

Sema Tutar PİŞKİNSÜT Türkiye'de İnsan Hakları ve Demokrasi **TÜKENDİ**

Akademi Forumu 5

Karen FOGG - Avrupa Birliği'nin Güncel Eğilimleri ve Türkiye **TÜKENDİ**

Akademi Forumu 6**Bakır ÇAĞLAR**

İnsan Hakları Avrupa Sözleşmesi Hukukunda Türkiye

TÜKENDİ**Akademi Forumu 7****Atilla KARAOSMANOĞLU**

Türkiye'de Yeniden Yapılanmayla İlgili Sorunlar

TÜKENDİ**Akademi Forumu 8****Stefanos YERASIMOS**

Birinci Dünya Savaşı ve Ermeni Sorunu (2.Baskı)

3,00 TL

Akademi Forumu 9**Gökhan S. HOTAMIŞLIGİL** - Yağ Hücresi Gelişimi ve Enerji Metabolizmasının Moleküler Kontrol Mekanizmaları**TÜKENDİ****Akademi Forumu 10****Korkut BORATAV** - Türk Ekonomisinin Son Durumu**TÜKENDİ****Akademi Forumu 11****M. Orhan ÖZTÜRK** - Sorma-Bilme Dürtüsü ve Girişim Duygusu Nasıl Yok Ediliyor? (2.Baskı)

2,50 TL

Akademi Forumu 12**Bozkurt GÜVENÇ**

Osmanlı'dan Cumhuriyete Kültürümüzde Batı Etkileri (2.Baskı)

2,50 TL

Akademi Forumu 13**Doğan KUBAN** - Kırsal Kültürün Nesnellik Boyutları**TÜKENDİ****Akademi Forumu 14****Mehmet ÖZDOĞAN** - Güneydoğu Anadolu'nun Kültür Tarihindeki Yerine Farklı Bir Bakış**TÜKENDİ****Akademi Forumu 15****Ziya AKTAŞ** - Türkiye'de Bilgi Toplumuna Nasıl Erişiriz? (2.Baskı)

3,00 TL

Akademi Forumu 16**Stanford J. SHAW**

Bir Düşüncenin Gerçekleşmesi Osmanlı Tarihi Çalışmalarım

TÜKENDİ**Akademi Forumu 17****M. Ali ALPAR** - Uzay Ajansları

2,50 TL

Akademi Forumu 18	
Nimet ÖZGÜÇ	
Hatti Efsanesi Yılan İlluyanka'nın Tasvir Sanatında Yorumu	2,5 TL
Akademi Forumu 19	
Ural AKBULUT - Tanzimat'tan Cumhuriyete Eğitim	TÜKENDİ
Akademi Forumu 20	
Ünal TEKİNALP - Türk Hukukunun AB Hukukuna ve Avrupa Konvansiyonuna Uyum Sorunu (2.Baskı)	2,50 TL
Akademi Forumu 21	
Erdal İNÖNÜ - Bilimsel Devrim ve Stratejik Anlamı	7,00 TL
Akademi Forumu 22	
Ergun ÖZBUDUN	
2002 Seçimleri Işığında Türk Siyasetinde Eğilimler	2,50 TL
Akademi Forumu 23	
Nusret ARAS - Üniversite Yasası Nasıl Olmalı?	TÜKENDİ
Akademi Forumu 24	
Cihan SAÇLIOĞLU - Felsefenin Kuantum Mekaniksel Temelleri	3,50 TL
Akademi Forumu 25	
İoanna KUÇURADI - Felsefe ve İnsan Hakları	3,50 TL
Akademi Forumu 26	
Türkan SAYLAN - Yükseköğretim Öncesi Eğitimin Durumu ve Çözüm Önerileri	2,50 TL
Akademi Forumu 27	
Kemal KURDAŞ	
Türkiye Ekonomisindeki Çöküş ve Geleceğe Bir Bakış İkinci Aşama	4,50 TL
Akademi Forumu 28	
Ariel RUBINSTEIN - Vahşi Ormanda Denge	2,50 TL
Akademi Forumu 29	
Fuat SEZGİN - İslam Kültür Dünyasının Bilimler Tarihindeki Yeri	4,00 TL
Akademi Forumu 30	
İlhan TEKELİ - Avrupa Birliği, Türkiye ve Demokrasi	3,50 TL
Akademi Forumu 31	
Gürol IRZİK - Bilim Savaşları	2,50 TL

Akademi Forumu 32	
İlber ORTAYLI - Filoloji ve Tarih	3,00 TL
Akademi Forumu 33	
Bozkurt GÜVENÇ - Cumhuriyet Döneminde Eğitim	4,50 TL
Akademi Forumu 34	
Hikmet ÖZDEMİR - Arnold Toynbee'nin Ermeni Sorununa Bakışı	TÜKENDİ
Akademi Forumu 35	
Hadi ÖZBAL - M. Ö. 3. Bin yılda Anadolu'da Bronz	2,50 TL
Akademi Forumu 36	
Türkay ATAÖV - Aydın Kime Demeli	3,00. TL
Akademi Forumu 37	
Osman BAHADIR - Erken Cumhuriyet ve Bilim	2,50 TL
Akademi Forumu 38	
Kemal DERVİŞ	
2000'li Yıllarda Türkiye'nin Büyüme Süreci ve Temel Sorunları	2,50 TL
Akademi Forumu 39	
Ersin ARIÖĞLU - Toplumsal Değişimin Dinamikleri	4,00 TL
Akademi Forumu 40	
Bülent ECZACIBAŞI - Türkiye'de Özel Sektör ve Kamu Yönetimi İlişkileri	2,50 TL
Akademi Forumu 41	
Mehmet ÖZTÜRK	
Sağlıkta ve Tarımda GDO'lar Biyoteknolojik, Transgenik Bitkiler	3,50 TL
Akademi Forumu 42	
Namık Kemal PAK	
Türkiye-AB Bilim, Teknoloji ve Araştırma Politikaları	3,50 TL
Akademi Forumu 43	
Cem BEHER - İstanbul'un Bir Mahallesinin Portresi	3,00 TL
Akademi Forumu 44	
Latif MUTLU - Yükseköğretime Giriş ve Üniversite Yöntemi	4,00 TL
Akademi Forumu 45	
Hasan YAZICI - İlaç Çalışmalarına Eleştirel Bir Bakış	3,50 TL

Akademi Forumu 46	
Ali ÜLGER - Matematiğin Kısa Bir Tarihi	3,50 TL
Akademi Forumu 47	
Meral SERDAROĞLU - Bilim Dervîşi Feza Bey	3,50 TL
Akademi Forumu 48	
Mehmet ERBUDAK - Fizikçi Gözüyle Nanoteknoloji	3,50 TL
Akademi Forumu 49	
Şevket PAMUK	
Dünyada ve Türkiye'de İktisadi Büyüme (1820-2005)	4,00 TL
Akademi Forumu 50	
Ahmet İNAM - Teknolojinin Gönölümle Ne İlgisi Var?	3,50 TL
Akademi Forumu 51	
İlhan BAŞGÖZ - Yük Taşımıyoruz Sevgi Taşıyoruz	3,50 TL
Akademi Forumu 52	
Altan ÇİLİNGİROĞLU - Urartu Kültürü ve Ayanis Kazıları	4,00 TL
Akademi Forumu 53	
Mehmet ÖZDOĞAN - Batı Düşünce Sistemi İçinde Arkeolojinin Yeri ve 21. Yüzyılda Yeni Arayışlar	4,00 TL
Akademi Forumu 54	
İsenbike TOGAN - 7. Ve 8. Yüzyıllarda Çin ve Türk Resmi Tarih Anlayışına Farklı Yaklaşımlar	4,00 TL
Akademi Forumu 55	
M. Öcal OĞUZ - Çağdaş Kentin Kültürü ve Somut Olmayan Kültürel Miras	3,50 TL
Akademi Forumu 56	
Namık Kemal ARAS - Nükleer Gücün Gelişimi	3,50 TL
Akademi Forumu 57	
M. Namık YALÇIN- Jeolojide Yeni Açılımlar	3,50 TL
Akademi Forumu 58	
Orhan BURSALI - Bilgi Toplumu Dünya ve İktidar Sorunu	6,00 TL
Akademi Forumu 59	
Büyükelçi Ömür ORHUN - Avrupa Güvenlik ve İşbirliği Teşkilatı (AGİT) ve AGİT'in İnsani Boyutu	4,50 TL

Akademi Forumu 60**Aytemiz GÜRGEY** - Trombozda Yenilikler

5,50 TL

Akademi Forumu 61**Zeynep AYCAN** - Hayat Dengesi: İş, Aile ve Özel Hayatı
Dengeleme Sanatı

5,00 TL

Akademi Forumu 62**Miral DİZDAROĞLU** - Gelibolu Yarımadası'nda Bir Bilim Adamı

5,50 TL

Akademi Forumu 63**Hüsnü AKHAN**

Global Krizin Dünyü, Bugünü, Yarını ve Türkiye'ye Etkileri

-

TÜBA RAPORLARI

Türkiye İçin Sürdürülebilir Kalkınma Öncelikleri

TÜKENDİNüfus ve Kalkınma Göstergeleri: Ulusal ve Uluslararası
Uygulamalar

8,00 TL

Population and Development Indicators: National and
International Practices

5,00 TL

Ergen ve Ruhsal SorunlarıDurum Saptama Çalışması

TÜKENDİ

Türkiye'nin Nüfus ve Kalkınma Yazını Eleştirel Bir Değerlendirme

9,00 TL

Yaşlılar ve Yaşlı Yakınları Açısından Yaşam Biçimi Tercihleri

8,00 TL

Yaşam Kalitesi Göstergeleri Türkiye İçin Bir Veri Sistemi
Önerisi (2.Baskı)

16,00 TL

Kök Hücre Araştırmalarında Güncel Kavramlar (2.Baskı)

5,00 TL

Türkiye'nin Çevre Konusunda Verdiği Sözler

9,00 TL

Temel Bilimler Öngörü Çalışması

6,00 TL

Bilimsel Araştırma ve Politika İlişkisi

7,50 TL

Moleküler Yaşam Bilimleri ve Teknolojileri

Öngörü Çalışması 2003 - 2023

6,50 TL

Yurtdışından Gelenlerin Nicelik ve Niteliklerinin Tespitinde Sorunlar

7,50 TL

Dünya'da ve Türkiye'de Biyolojik Çeşitliliği Koruma

9,00 TL

Yerleşme Birimleri/ Çalışmaları İçin Öngörüler

8,00 TL

Genetik Araştırma ve Uygulamada Etik

2,50 TL

Türkiye İçin Nüfus ve Kalkınma Stratejileri ve Bazı Politika Önerileri (2. Baskı)	16,00 TL
Sosyal Bilimler Öngörü Çalışması 2003 - 2023	13,00 TL
İktisat Öngörü Çalışması 2003 - 2023	13,00 TL
Beklenen Marmara Depremi Riskler ve Önlemler	5,00 TL
Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar	20,00 TL
Türkiye'nin Sağlık Bağlamı İçinde 1593 Sayılı Umumi Hıfzısıhha Kanunu ve Cumhuriyetin Sağlık Sorununa Yaklaşımı- TÜBA Çevre Komitesi	18,00 TL

DERS KİTAPLARI

Kalkülüs : Diferansiyel ve İntegral - James STEWARD	60,00 TL
Organik Kimya Reaksiyon Mekanizmaları (2. Baskı)- Metin BALCI	35,00 TL
Matematik Dış Form Analizi - Erdoğan S. ŞUHUBİ (2. Baskı)	40,00 TL
Cebir Dersleri - Halil İbrahim KARAKAŞ	35,00 TL
Hücrenin Moleküler Biyolojisi - Bruce ALBERTS	90,00 TL
Kuantum Mekaniği: Temel Kavramlar ve Uygulamaları Tekin DERELİ, Abdullah VERÇİN	25,00 TL
Kuantum Mekaniğine Giriş, Kimyadaki Uygulamaları ile Yazarlar: Linus PAULING, E. Bright WILSON Çevirenler: Bahattin BAYSAL, Erdal İNÖNÜ	-

ERDAL İNÖNÜ BİBLİYOGRAFYALARI

1923-1966 Döneminde Türkiye'nin Astronomi ve Astrofizik Dallarındaki Araştırmalara Katkısını Gösteren Bir Bibliyografya ve Bazı Gözlemler- Erdal İNÖNÜ	25,00 TL
--	----------

YAŞAM ÖYKÜSÜ DİZİSİ

Bir Arkeoloğun Anıları - Ekrem AKURGAL (3.Baskı)	20,00 TL
İlk Türk Hititoloğun Yaşam Öyküsü - Sedat ALP	20,00 TL

Bilime Adanmış Bir Ömür - Muzaffer AKSOY	25,00 TL
Anlamak Tutkunu Bir Matematikçi - Cahit ARF	30,00 TL

BİLİMSEL TOPLANTI DİZİSİ

TÜBA Bilim Etiği Sempozyumu	23,00 TL
Dünya'da ve Türkiye'de Bilim, Etik ve Üniversite	TÜKENDİ
Bilim ve Eğitim	TÜKENDİ
Üniversite Yasası	TÜKENDİ
Üniversitelerde Akademik Yükseltmeler	TÜKENDİ
Nasıl Bir Üniversite Mezunu İstiyoruz?	TÜKENDİ
Üniversiteye Giriş	TÜKENDİ
Bilim Adamı Yetiştirme-Lisans Üstü Eğitim	TÜKENDİ
Temel Eğitim (Bilim, Eğitim ve Toplumsal Gelişme)	TÜKENDİ
İnsan Haklarının Gelişimi	TÜKENDİ
Türkiye ve Azerbaycan, Kazakistan, Kırgızistan	TÜKENDİ
Bilim Akademileri Ortak Toplantısı	TÜKENDİ
Türk Bilim Politikasında Yeni Arayışlar	TÜKENDİ

TÜBA TÜRKİYE CUMHURİYETİ'NİN 75.YILI TOPLANTI DİZİSİ

Türkiye Cumhuriyetinin 75. Yılında TÜBA Konferansları I	
"Cumhuriyet Döneminde Türkiye'de Bilim"	
"Cumhuriyet Döneminde Türkiye'de Bilime Toplu Bir Bakış ve Gelecek Hakkında Beklentiler"	2,00 TL
Türkiye Cumhuriyetinin 75. Yılında TÜBA Konferansları II	
"Demokrasinin Temel Sorunları"	2,00 TL

CUMHURİYET DÖNEMİNDE TÜRKİYE'DE BİLİM
“SOSYAL BİLİMLER”

Cumhuriyet Döneminde Türkiye'de Bilim (Sosyal Bilimler)	TÜKENDİ
Cumhuriyet Döneminde Türkiye'de Bilim (Sosyal Bilimler II)	5,00 TL

TÜBA TÜKSEK KÜLTÜR ENVANTERİ PROJESİ

Türkiye Bilimler Akademisi - Türkiye Kültür Envanteri (TÜBA-TÜKSEK) Pilot Bölge Çalışmaları Birecik-Suruç 1/1	25,00 TL
Türkiye Bilimler Akademisi - Türkiye Kültür Envanteri (TÜBA-TÜKSEK) Pilot Bölge Çalışmaları Birecik-Suruç 2/1	20,00 TL
Türkiye Bilimler Akademisi - Türkiye Kültür Envanteri (TÜBA-TÜKSEK) Pilot Bölge Çalışmaları Buldan 1/2	TÜKENDİ
Türkiye Bilimler Akademisi - Türkiye Kültür Envanteri (TÜBA-TÜKSEK) Pilot Bölge Çalışmaları Buldan 2/2	25,00 TL
Şanlıurfa İli Kaynakçası (TÜBA-TÜKSEK) Pilot Bölge Çalışmaları 2/1	5,00 TL
Türkiye Kültür Envanteri Kılavuzu	7,00 TL

TÜBA DERGİLERİ

TÜBA-AR I	TÜKENDİ
TÜBA-AR II	TÜKENDİ
TÜBA-AR III	7,50 TL
TÜBA-AR IV	7,50 TL
TÜBA-AR V	10,00 TL
TÜBA-AR VI	15,00 TL
TÜBA-AR VII	25,00 TL
TÜBA-AR VIII	25,00 TL
TÜBA-AR IX	25,00 TL

TÜBA-AR X	25,00 TL
TÜBA-AR XI	25,00 TL
TÜBA-AR XII	40,00 TL
TÜBA-AR XIII	40,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 1 (2003)	20,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 2 (2004)	25,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 3 (2004)	25,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 4 (2005)	25,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 5 (2006)	25,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 6 (2007)	30,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 7 (2009)	40,00 TL
TÜBA-Kültür Envanteri Dergisi 8 (2010)	40,00 TL
TÜBA Akademi Yıllığı- Haziran 2008/1	15,00 TL

**TÜBA - TÜRKİYE BİLİMLER AKADEMİSİ
BAŞKANLIK**

Piyade Sokak No: 27, 06690 Çankaya-ANKARA
Telefon: (312) 442 29 03 (PBX)
Faks : (312) 442 72 36, 442 23 58, 442 64 91

e-posta: tuba@tuba.gov.tr
web: <http://www.tuba.gov.tr>

TÜBA - İSTANBUL OFİSİ

İstanbul Teknik Üniversitesi
Maçka Yerleşkesi
Yabancı Diller Yüksek Okulu
Maçka İSTANBUL
Tel. ve faks : (212) 219 16 60
