

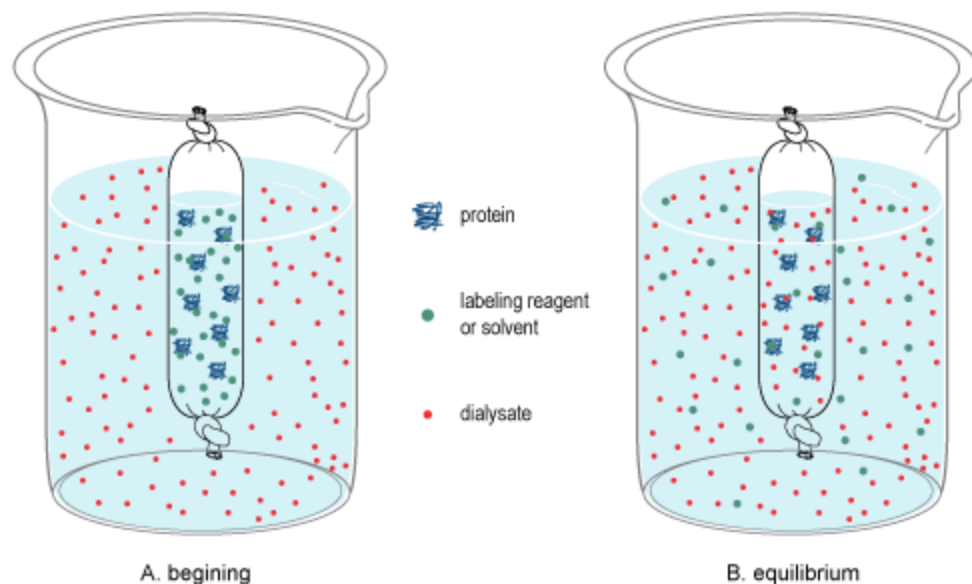
کیسه دیالیز آزمایشگاهی چیست؟

کیسه یا غشای دیالیز نوعی لوله غشایی نیمه تراوا است که از سلولز، استات سلولز یا سلفون ساخته شده است، این غشاها برای انتشار از قانون اسمز استفاده کرده و به مولکول های کوچکتر اجازه عبور داده در حالی که مولکول های بزرگتر در آن باقی می مانند. کیسه دیالیز عموماً جهت جداسازی مولکول های زیستی از جمله پروتئین ها و DNA یا نمونه های بیولوژیکی پیچیده مانند خون یا سرم استفاده می شود. کیسه های دیالیز با وزن مولکولی (MWCO) به عنوان کوچکترین وزن مولکولی ماکرومولکول های زیستی باقی مانده در کیسه دیالیز (قطر منافذ ۱۰۰, ۵۰۰, ۱۰۰۰, ۳۵۰۰, ۲۰۰۰, ۱۰۰۰۰۰۰, ۲۰۰۰۰۰, ۱۰۰۰۰۰, ۵۰۰۰۰, ۲۵۰۰۰, ۱۴۰۰۰, ۱۲۰۰۰, ۱۰۰۰۰, ۸۰۰۰ کیلو دالتون و با عرض های از ۸ میلی متر تا ۷۷ میلی متر تولید می شوند. این کیسه ها قابلیت اتوکلاو داشته و می توان از آن مجدداً پس از اتوکلاو استفاده کرد.



فرآیند دیالیز چیست؟

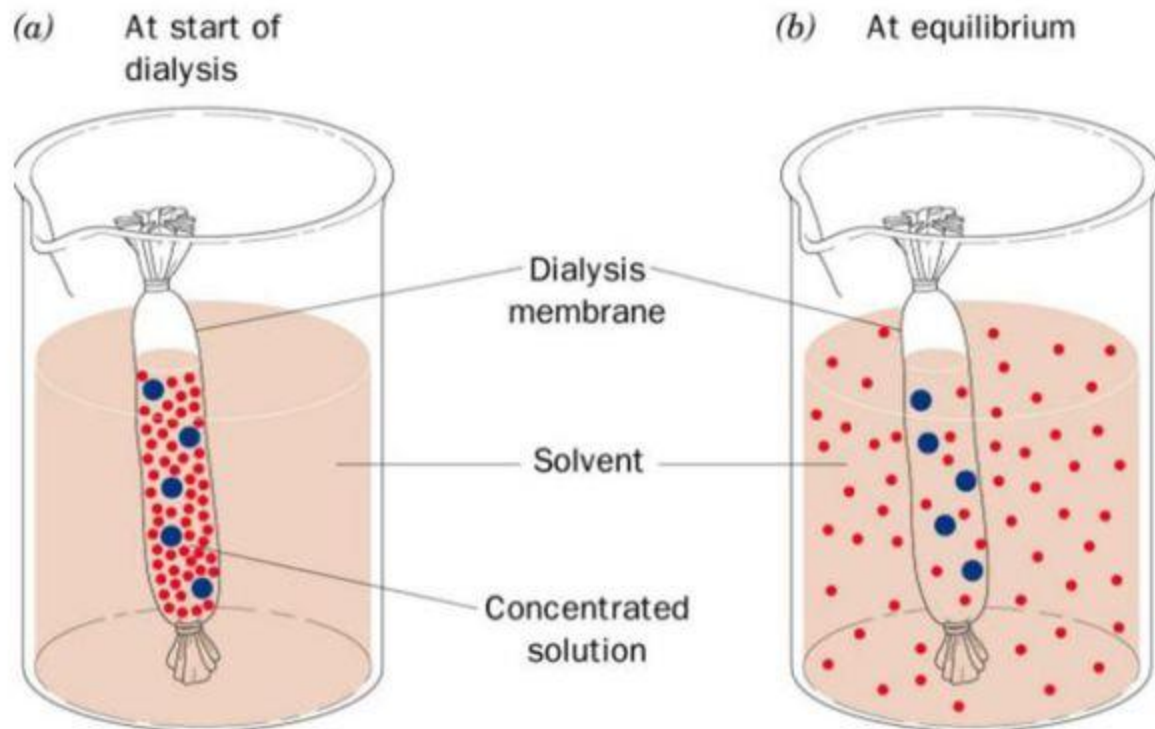
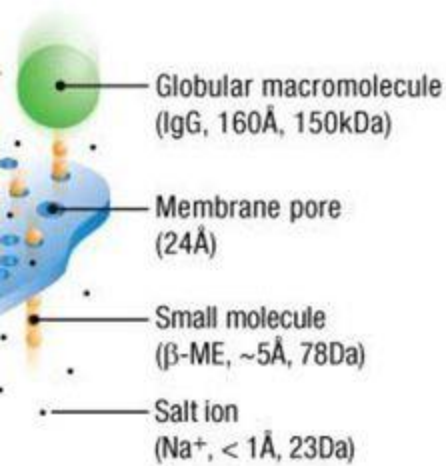
دیالیز امکان جدا شدن مولکول های کوچک از مولکول های بزرگ یا تعویض محیط را فراهم می کند. این تکنیک، یکی از قدیمی ترین روش ها برای جداسازی ترکیبات دارای وزن مولکولی کم از یک محلول و مبادله آن ها با بافر است. اساس این روش از خصوصیات غشاهای نیمه تراوا که بین محلول پروتئین و بافر دیالیز قرار می گیرد، ناشی می شود. این غشای نیمه تراوا که معمولاً از جنس غشا سلولز دارای حفره است به مولکول های کوچکتر، اجازه عبور داده و از نفوذ ماکرومولکول ها از خلال آن جلوگیری می کند. مولکول های دارای ابعاد بزرگتر از قطر منافذ کیسه دیالیز، در داخل کیسه دیالیز محبوس شده و مولکول های کوچکتر و یون ها، از این منافذ عبور می کنند و از کیسه خارج می شوند. این تکنیک برای خارج کردن یک نمک یا سایر مولکول های کوچک نیز مفید است.



عملکرد دیالیز به خاطر تفاوت غلظت ترکیبات در دو طرف غشا بوده و هرگاه غلظت ترکیبات مورد نظر در دو طرف غشا یکسان شود، تعداد ملکول‌های مبادله شونده از دو سمت غشا نیز به تعادل رسیده و فرایند دیالیز نیز به مرحله پایان خود می‌رسد. بنابراین در این مرحله با تعویض بافر دیالیز، کاهش بیشتر غلظت ترکیب مورد نظر در یک محلول پروتئینی امکان پذیر می‌شود. پس از چندین مرتبه تعویض محلول بافر، شرایط داخل کیسه دیالیز از قبیل غلظت، PH و ... همانند محلول بافر اطراف آن خواهد شد. به عنوان مثال، ممکن است که از دیالیز به منظور خارج ساختن سولفات آمونیوم از پروتئین استفاده شود. تعویض بافر دیالیز نسبت به حجم تام بافر، اهمیت بیشتری دارد. سرعت عمل دیالیز با افزایش نسبت سطح غشا به حجم محلول، بیشتر می‌شود. از طرف دیگر، افزایش سطح با کاهش بازیافت پروتئین همراه است. زیرا همواره مقداری از پروتئین جذب غشا دیالیز شده و بدین طریق از دست می‌رود. بنابراین بایستی میان سرعت دیالیز و بازیافت پروتئین مورد نظر سازگاری وجود داشته باشد. میزان انتشار و جابجایی ملکول‌ها، به دما و ویسکوزیته محلول بستگی دارد. اگر چه با افزایش دما، میزان انتشار نیز افزایش می‌یابد اما در اغلب موارد، ثبات پروتئین در دمای ۴-۸ درجه سانتیگراد است. از این رو، فرایند دیالیز را در سردخانه انجام داده و محلول‌های با ویسکوزیته بالا را نیز قبل از انجام فرایند دیالیز، رقیق می‌کنند.

Membrane Permeability and Dialysis Tubing

a selectively permeable membrane used to separate large molecules from small molecules used in diffusion



How is dialysis tubing a good model for absorption in the small intestine?

نحوه آماده سازی و فعال سازی کیسه دیالیز

برای آماده کردن کیسه‌های دیالیز، روش‌های گوناگونی وجود دارد که در ذیل به دو روش از آن‌ها اشاره می‌شود.

روش اول

بعد از برش کیسه دیالیز در اندازه‌های مورد نیاز، آن‌ها را در یک بشر حاوی محلول بی‌کربنات سدیم ۲٪ و EDTA یک میلی‌مولار، غوطه‌ور کرده و به مدت ۱۰ دقیقه می‌جوشانیم. پس از خنک شدن محلول، کیسه‌های دیالیز را با آب مقطر دو بار شستشو داده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در محلول EDTA یک میلی‌مولار می‌جوشانیم. پس از اتمام زمان جوش و خنک شدن محلول، کیسه‌های دیالیز آماده استفاده هستند.

روش دوم

کیسه‌های دیالیز را به یک ظرف ۴ لیتری انتقال داده و سپس ۲ لیتر محلول بیکربنات سدیم ۱۰۰ میلی مولار و EDTA دی سدیمی ۱۰ میلی مولار که PH آن‌ها را به ۷ رسانده‌ایم به آن‌ها اضافه می‌کنیم. سپس در ظرف را پوشانده و در بن‌ماری شیکر دار به مدت یک ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به ملایمت تکان داده می‌شوند. سپس محلول درون بشر را با ۲ لیتر آب مقطر تعویض کرده و کیسه دیالیز را به مدت یک ساعت در آن نگه می‌دارند. در صورت کدر شدن آب مقطر باید آن را با آب مقطر تازه جایگزین کرد و این کار را تا شفاف باقی ماندن آب مقطر بایستی ادامه داد.

نگهداری کیسه‌های دیالیز

کیسه‌های دیالیز آماده را می‌توان در آب مقطر حاوی کلروفرم ۰/۱ درصد و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری کرد. گاهی از سدیم آزید ۲ درصد نیز استفاده می‌شود که معمولاً مشکلی ایجاد نمی‌کند و از رشد باکتریها نیز جلوگیری می‌کند.

طریقه استفاده از کیسه‌های دیالیز

تغییر دمای محلول حاوی کیسه دیالیز باید به صورت تدریجی بوده و از تغییر دمای محلول به صورت ناگهانی خودداری کرد. تغییرات ناگهانی دما موجب تغییر در اندازه روزه‌های کیسه‌های دیالیز می‌شود. در هنگام کار کردن با کیسه‌های دیالیز به منظور جلوگیری از آلودگی آن‌ها با پروتئازها باید از دستکش استفاده کرد. داخل و خارج کیسه دیالیز را قبل از استفاده باید با جریانی از آب مقطر شستشو داد.

مراحل انجام دیالیز

برای انجام فرایند دیالیز، ابتدا انتهای کیسه‌های دیالیز را به وسیله گره زدن یا استفاده از گیره‌های غشا دیالیز، به صورتی که نشستی نداشته باشد می‌بندیم. سپس محلول مورد نظر را درون کیسه دیالیز ریخته و سر کیسه‌ها را نیز مانند انتهای آن‌ها می‌بندیم. این کیسه دیالیز پر شده از محلول را در بافر دیالیز غوطه ور می‌کنیم. کیسه‌های دیالیز بایستی در ظرفی که حاوی مگنت بوده و بر روی Stirrer قرار گرفته است، قرار داده شوند و به مدت ۲۴ ساعت، فرایند دیالیز انجام شود. در صورتی که آب مقطر درون ظرف به نظر کدر برسد، بایستی با آب مقطر تازه جایگزین شود.