وب سایت رسمی استاد شاکری ...

www.zistkadeh.com

سلام خرابوون

این فصل هیچی نداره

اما

در ظاهر...!

باطنش خیلی مهمه

این فصل را باید مفهومی و ترکیبی بخوانید.

*در این فصل با کوهن و بایر، مراحل مهندسی ژنتیک، وکتور، آنزیم محدود کننده، لیگاز، واکسن نوترکیب، ژن درمانی، **HGP**، پلازمید **Ti**، جانداران تراژن و کلون کردن با استفاده از سلول‌های تمایز یافته آشنا می‌شوید.*

قبل از خواندن این فصل حتما فصل‌های ۵ و ۶ زیست۲ و فصل ۱ همین کتاب را یک نگاه بیندازید و تا می‌توانید ترکیبی باشید.

طراحان کنکور گاهی وقتی از این فصل تست‌هایی نه چندان سفت طرح می‌کنند اما باور کنید در این فصل کلی سوژه‌های جدید وجود دارد که ...

فعلا ...

راستی اگه احساس می‌کنی خیلی عقبی، اصلا تا الان هیچی زیست نفوندی یا کلا ناامیدی ...! باید بگم هنوزم دیر نشده...

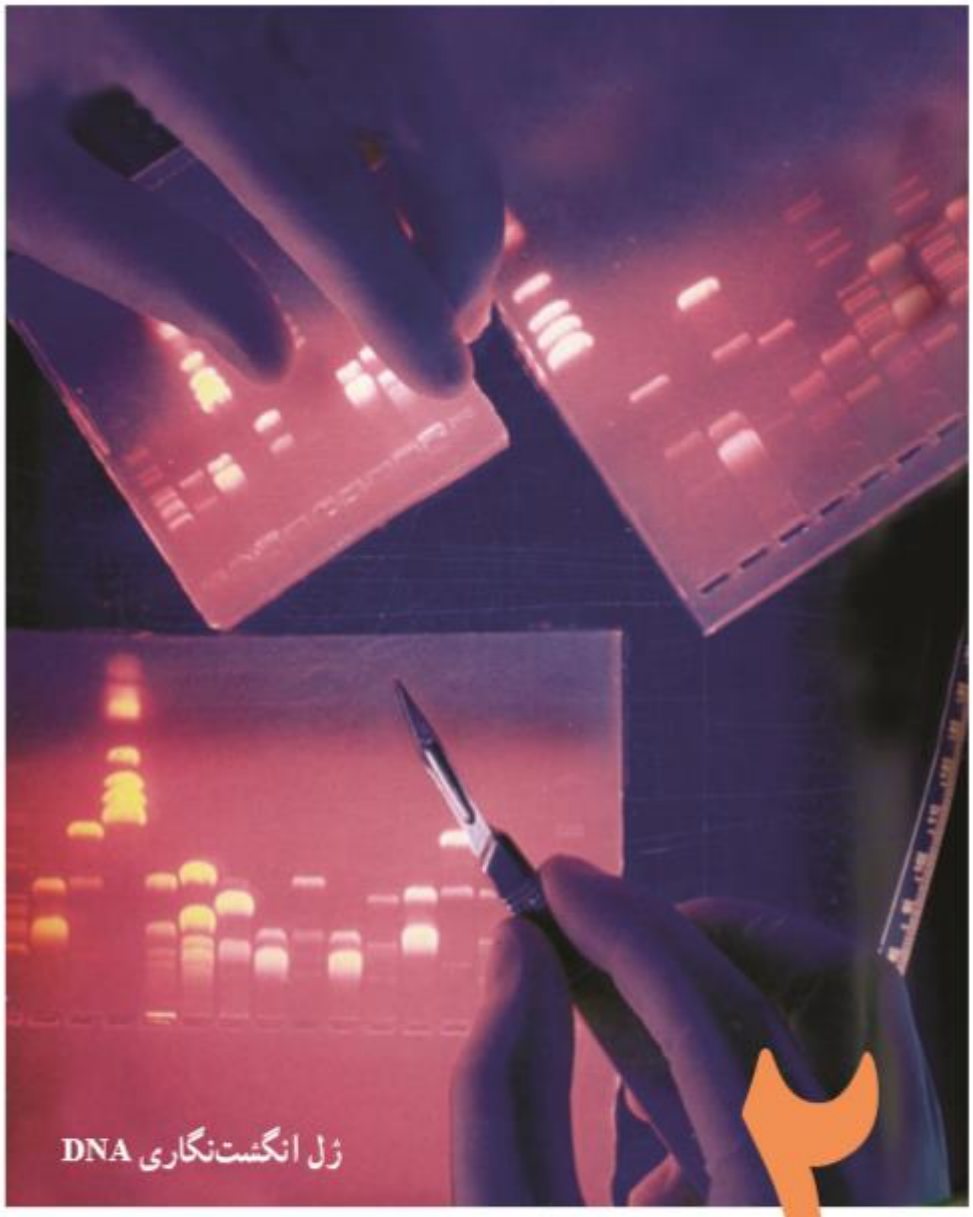
از همین الان

از همین جا

ولی

متفاوت

شروع کن ... :)



۲ تکنولوژی زیستی

اولین دست‌ورزی ژن

۱ مراحل آزمایش استانلی کوهن و هربرت بایر به طور خلاصه

۱- خروج ژن رمزکننده‌ی RNAی ریبوزومی (ژن rRNA) از نوعی قورباغه‌ی آفریقایی.

ترکیب: قورباغه جزو دوزیستان بوده و یوکارت است. پس مانند سایر یوکاریوت‌ها دارای توالی افزاینـده، عوامـل رونویسـی، ۳ نـوع RNA پلی‌مراز و کلی اندامک است .

نکته: در طی خروج ژن رمز کننده rRNA از DNAی قورباغه باید از آنزیم محدود کننده (بعداً می‌گم چی است) استفاده کرد و حتماً پیوند فسفودی استر شکسته می‌شود.

۲- وارد کردن ژن rRNAی قورباغه‌ی مذکور به درون DNA حلقوی باکتری اشریشیاکلای .

تذکر: در ادامه می‌فهمید که چه‌طوری این کار را انجام دادند.

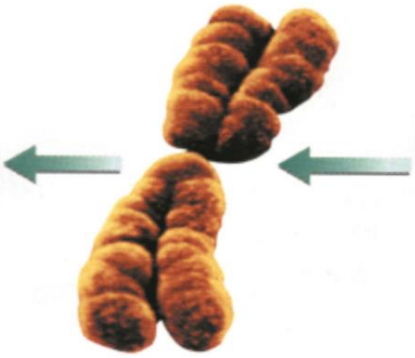
نکته: DNA باکتری مذکور الان دارای ژن رمزکننده‌ی rRNA قورباغه (بخشی از DNA خطی) است. این یعنی DNA مذکور (باکتری) دارای ژن بیگانه است.

۳- وارد کردن DNA حلقوی تغییر یافته به درون باکتری اِکلای.

یادآوری: DNA حلقوی تغییر یافته دارای ژن رمز کننده‌ی rRNA یوکاریوتی است.

۴- باکتری از روی ژن رمز کننده‌ی rRNA قورباغه رونویسی می‌کند و rRNA قورباغه را می‌سازد.

۱ــ این قورباغه به‌عنوان جاندار آزمایشگاهی انتخاب شد.



۲ــ ژن رمز کنندهٔ یک rRNA از یکی از کروموزوم‌های آن جدا شد.

۳ــ این ژن را به باکتری‌ها وارد کردند. باکتری‌ها rRNA قورباغه را ساختند.

۲ اولین جاندار دست‌ورزی شده

باکتری اکلای اولین جانداری است که به روش‌های مهندسی ژنتیک (توسط کوهن و بایر) تغییر پیدا کرد و به اصطلاح تحت دست‌ورزی قرار گرفت. فرایند دست‌ورزی در ژن‌ها، **مهندسی ژنتیک** نامیده می‌شود.

در مورد اولین جاندار دست‌ورزی شده (اکلای) باید مطالب زیر را بدانید:

a) نوعی باکتری به اسم **اشریشیاکلای** است. که در روده‌ی انسان زندگی می‌کند.

b) اندامک (هسته، میتوکندری، گلژی و...) ندارد.

c) دارای DNA حلقوی، ریبوزوم‌های کوچک با ساختار ساده، یک نوع RNA پلی‌مراز، اپران لک، اپراتور، بخش ساختار چندژنی، پروتئین مهار کنده (تنظیم کننده) می‌باشد.

نکته: طبق شکل (۱-۲)، اکلای **تاژک‌دار** است.

d) فاقد توالی افزاینده، سه نوع RNA پلی مراز (III, II, I)، عوامل رونویسی و مژک است.

ترکیب: غذای اول آن گلوکز و غذای دوم آن لاکتوز (قندشیر) است.

۳ چندتا نکته درباره‌ی آزمایش کوهن و بایر

a) در همه‌ی جانداران ژن رمزکننده‌ی rRNA وجود دارد. زیرا در همه‌ی جانداران ریبوزوم یافت می‌شود.

b) در همه‌ی سلول‌های هسته‌دار قورباغه ژن رمزکننده‌ی rRNA یافت می‌شود.

یادآوری: ژن از جنس DNA است پس دو رشته‌ای بوده و می‌تواند دارای نوکلئوتیدهای آدنین‌دار (A) تیمین‌دار (T)، سیتوزین‌دار (C) و گوانین‌دار (G) باشد در ضمن قند آن دئوکسی ریبوز بوده ودر هر رشته پیوند فسفودی استر وجود دارد.

c) ژن رمزکننده‌ی rRNA از جانداری یوکاریوت (قورباغه) به پروکاریوت (اکلای) انتقال یافت.

تذکر: در این آزمایش rRNA، پروتئین ریبوزومی و ژن رمزکننده‌ی پروتئین ریبوزومی به اکلای انتقال نیافت.

d) در این آزمایش اکلای تحت دستورزی ژن قرار گرفت و از طریق مهندسی ژنتیک تغییر یافت نه قورباغه

نکته: قورباغه‌ی آفریقایی به عنوان **جاندار آزمایشگاهی** انتخاب شد.

ترکیب: DNAی هسته‌ای قورباغه خطی بود ولی DNA باکتری حلقوی.

نکته: در این آزمایش DNA تغییر یافته (DNA نوترکیب)، DNA حلقوی باکتری بود که دارای ژن خارجی (ژن رمزکننده‌ی rRNA یوکاریوتی) بود ودر نهایت به درون اکلای انتقال یافت.

e) ژن رمزکننده‌ی rRNAی قورباغه (یوکاریوتی) توسط RNA **پلی‌مراز پروکاریوتی** (اکلای تغییر یافته) رونویسی شد و rRNAی یوکاریوتی در اکلای تولید شد.

تذکر: rRNA ترجمه نمی‌شود. پس در این آزمایش فقط رونویسی صورت گرفت اما ترجمه صورت نگرفت و ریبوزوم‌های ساده و کوچک اکلای نقش نداشت.

نکته: در rRNA کدون آغاز ترجمه، جایگاه اتصال آمینواسید و پیوند پپتیدی وجود ندارد.

ترکیب: در RNA , DNA پیوند پپتیدی و آمینواسید وجود ندارد.

f) در این آزمایش ژن یوکاریوتی توسط RNA پلی‌مراز پروکاریوتی رونویسی شد.

g) در این آزمایش از **آنزیم محدود کننده و وکتور** استفاده شد. در ضمن در این آزمایش هم DNA خطی (دو طرف ژن rRNA) و هم حلقوی (DNA باکتری) برش داده شد و پیوند فسفودی استر شکسته شد.

نکته: پس از قراردادن ژن rRNA قورباغه در DNA حلقوی اکلای، پیوند فسفودی استر تشکیل شد.

۴ چندتا مفهوم

یک قطره‌ی خون برای تعیین نقشه‌ی ژنی یک فرد کافی است. تکنولوژی ژن همان حالی که می‌تواند خدمات زیادی به جامعه‌ی بشری ارائه دهد، مشکلاتی را نیز **ممکن است** به دنبال داشته باشد.

۱- شرایط لازم برای استخراج ژن و تعیین نقشه‌ی ژنی یک فرد:

a) سلول باید هسته دار باشد.

ترکیب: پلاکت‌ها و گلبول‌های قرمز هسته ندارند.

b) سلول باید زنده باشد.

ترکیب: سلول‌های لایه‌ی شاخی مرده‌اند.

نکته: برای تعیین نقشه‌ی ژنی در گیاهان نمی‌توان از سلول‌های بدون هسته (سلول‌های غربالی) و یا سلول‌های مرده (فیبرها، اسکلروئیدها، عناصر آوندی، تراکئید و کلاهک ریشه) استفاده کرد.

۲- شرایط لازم برای تعیین کاریوتیپ در یک فرد:

تعریف: به تصویری از کروموزوم‌های در حال تقسیم که در آن کروموزوم‌ها بر حسب اندازه و شکل و محل سانترومر ردیف شده‌اند، میگن **کاریوتیپ**.

a) سلول باید زنده و هسته‌دار باشد.

b) دارای قدرت تقسیم باشد.

ترکیب: میون‌ها (سلول‌های ماهیچه‌ی اسکلتی)، نورون‌ها و پلاسموسیت‌ها و گامت (اسپرم و تخمک) زنده بوده اما قدرت تقسیم ندارند.

ترکیب: در گیاهان سلول های کلانشیمی زنده و هسته‌دار هستند اما قدرت تقسیم ندارند.

سؤال: با توجه به آزمایش کوهن و بایر درستی یا نادرستی عبارت زیر را تعیین کنید:

الف) در جاندار تغییر یافته ژن رمزکننده‌ی rRNA درون اپران قرار دارد.

ب) ژن خارجی موجود در اکلای مربوط به پروتئین ریبوزومی بود.

ج) توسط وکتور rRNAی یوکاریوتی به درون جاندار پروکاریوتی انتقال یافت.

د) جانداری که به عنوان جاندار آزمایشگاهی انتخاب شد واجد سه نوع RNA پلی‌مراز بود.

هـ) در اولین جاندار تغییر یافته به روش مهندسی ژنتیک توالی افزاینده یافت نمی‌شود.

و) در آخرین مرحله از آزمایش، در اکلای توالی کدونی به توالی آمینواسیدی تبدیل یافت.

ز) در طی آزمایش، ژن یوکاریوتی توسط RNA پلی‌مراز I جاندار تغییر یافته رونویسی شد.

پاسخ:

درست: الف، د، هـ

نادرست: ب، ج، و، ز

چند تا مطلب

۱ اهداف مهندسی ژنتیک

در مهندسی ژنتیک اهداف مختلفی دنبال می‌شود:

a) **یکی از مهم‌ترین آن ها تولید ژن یا فراورده‌ی آن** به مقدار انبوه است.

نکته: فراورده‌ی ژن می‌تواند mRNA، پروتئین یا انواعی از RNAها (مثل rRNA و...) باشد.

b) تولید دارو

c) تولید واکسن نوترکیب

d) ژن درمانی

e) توالی یابی و تعیین جایگاه ژن‌ها در جانداران

f) انتقال ژن به گیاهان و اصلاح آن‌ها

g) انتقال ژن به دام‌ها و تغییر آن‌ها و تولید پروتئین‌های مفید

۲ تولید ژن به مقدار انبوه در یک نگاه

a) جدا کردن ژن مورد نظر از ژن‌های جاندار

b) وارد کردن ژن مورد نظر به جاندار دیگر

نکته: ژن را باید به جاندار ساده‌ای وارد شود که **تولید مثل سریع** دارد. مثل باکتری.

c) باکتری تغییر یافته در طی همانندسازی مقدار زیادی ژن مذکور را برای ما می‌سازد.

d) خارج‌کردن ژن مذکور از باکتری که مقدار زیادی از آن تولید شده است.

۳ مهندسی ژنتیک در یک نگاه

به طور کلی می‌توان گفت مراحل مهندسی ژنتیک به‌صورت زیر است:

۱- DNA برش داده می‌شود.

a) ابتدا ژن مورد نظر را در بین انبوه ژن‌های جاندار شناسایی می‌کنیم.

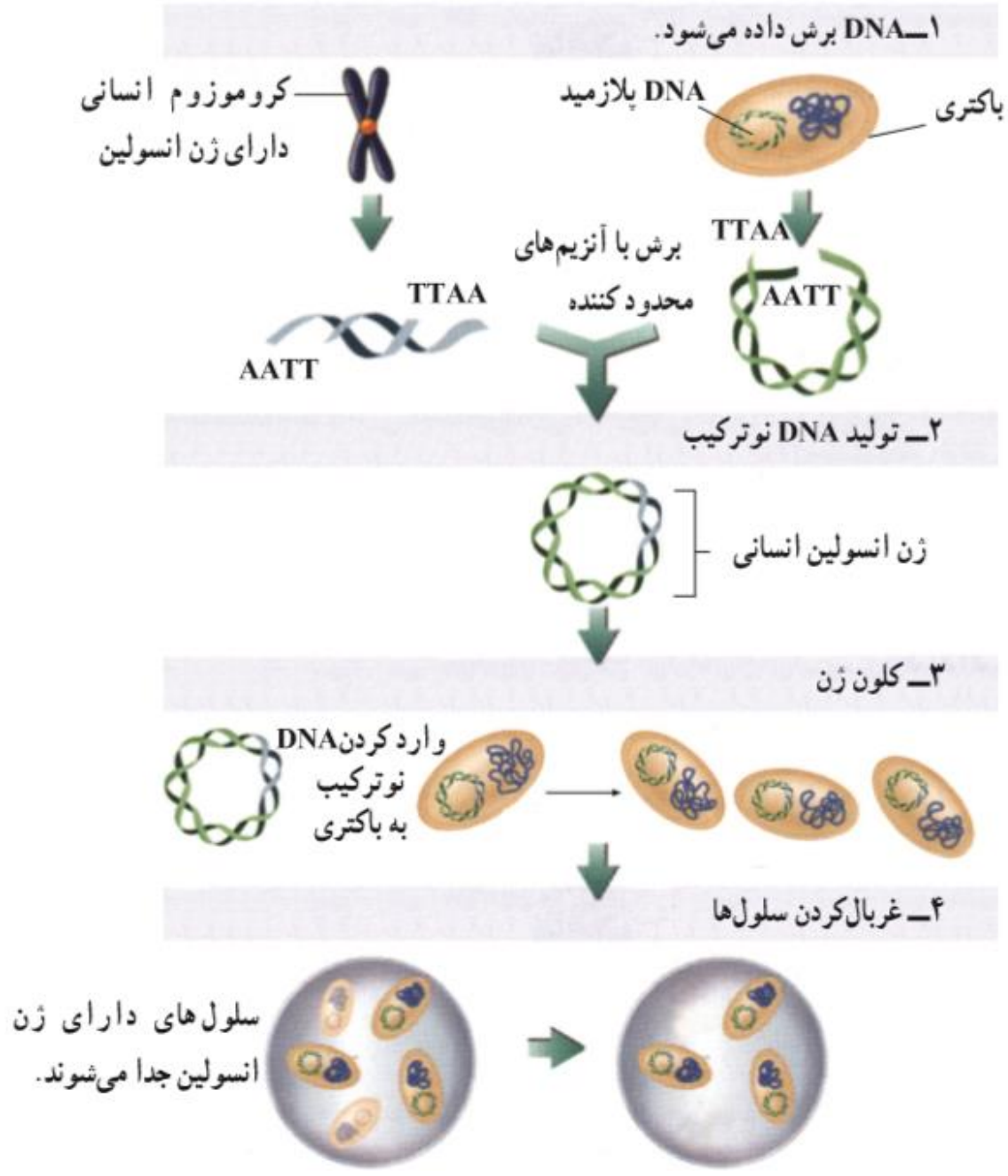
b) سپس توسط آنزیم محدود کننده ژن مورد نظر را جدا می‌کنیم.

نکته: به ژن مورد نظر می‌گن **ژن خارجی**

توجه: درباره‌ی آنزیم محدود کننده بعداً حرف می‌زنیم.

c) به وسیله‌ی **همان آنزیم محدود کننده پیوند فسفودی استر** در وکتور را می‌شکنیم.

توجه: درباره‌ی وکتور کمی جلوتر حرف زدیم.



۲- تولید DNA نوترکیب

a) ژن خارجی را وارد وکتور می‌کنیم. (تشکیل پیوند هیدروژنی)

b) در محل اتصال ژن خارجی و وکتور به وسیله‌ی **آنزیم DNA لیگاز** پیوند فسفودی استر تشکیل می‌دهیم تا اتصال محکم شود.

نکته: مولکول جدیدی که دارای ژن خارجی و وکتور است می‌گن **DNA نوترکیب**

۳- کلون کردن ژن

a) DNA نوترکیب را وارد باکتری (جانداری ساده همراه با تولید مثل سریع) می‌کنیم.

b) باکتری با استفاده از آنزیم‌هایش (DNA پلی مراز و هلیکاز) از روی DNA نوترکیب (حامل ژن خارجی است) همانند سازی می‌کند و از آن نسخه‌های متعدد و یکسان ایجاد می‌کند.

۴- غربال کردن سلول‌ها

a) با انجام یک سری از کارها باکتری‌هایی که DNA نوترکیب را ندارند، می‌کُشیم.

b) با انجام این مرحله سلول‌های دارای ژن مورد نظر جدا می‌شوند.

۵- استخراج ژن

a) خارج کردن DNA نوترکیب از باکتری

b) خارج کردن ژن مورد نظرمان (ژن خارجی) از DNA نوترکیب

c) جداک کردن ژن مورد نظرمان (که الان مقدارش زیاد شده است) از مخلوط DNA باکتری و ژن خارجی به وسیله‌ی الکترو فورز در ژن.

توجه: همه‌ی مواردی که در این‌جا گفتیم به صورت مفصل بررسی خواهیم کرد.

نکته: در بسیاری از آزمایش‌های مهندسی ژنتیک **یکی یا همه‌ی** این مراحل اساسی انجام می‌شود.

وکتورها

وکتورها برای وارد کردن ژن مورد نظر (ژن خارجی) به درون باکتری (یا سلول دیگری که ما نیاز داریم) استفاده می‌شوند.

معمول‌ترین وکتورها عبارت‌اند از: پلازمیدها و ویروس‌ها

۱ پلازمیدها

a) مولکول‌های DNA حلقوی کوچک هستند.

b) در **بعضی** از باکتری‌ها وجود دارند.

c) اسم دیگر پلازمیدها **کروموزوم‌های کمکی** است.

نکته: پلازمیدها چون حاوی ژن‌هایی هستند که در کروموزوم اصلی باکتری وجود ندارد بهشون می‌گن **کروموزوم‌های کمکی**

مثال: در **بعضی** از پلازمیدها ژن مقاوم به آنتی بیوتیک وجود دارد. مواظب باشید این ژن در DNA حلقوی اصلی باکتری نیست.

d) پلازمیدها **می‌توانند** مستقل از کروموزوم اصلی همانندسازی کنند.

نکته: پلازمیدها **می‌توانند** حتی در مواقعی که باکتری در حال تولید مثل نیست نیز همانندسازی کنند.

نکته: مهندسان ژنتیک، ژن مورد نظر را درون پلازمید قرار می‌دهند. به این ترتیب، **هرگاه** که پلازمید همانندسازی، می‌کند، ژن مورد نظر (ژن خارجی) نیز همانندسازی می‌کند. و بدین ترتیب بر تعداد نسخه‌های آن **دائماً** افزوده می‌شود.

تذکر: در باکتری **ممکن است یک** پلازمید یا **بیش‌تر** از یک پلازمید وجود داشته باشد و یا **شاید** اصلاً در باکتری هیچ پلازمیدی وجود نداشته باشد.

e) **پلازمید Ti** عامل بیماری **گال** در گیاهان است و به عنوان وکتور برای انتقال ژن به سلول‌های **گروهی از گیاهان** استفاده می‌شود.

توجه: بعداً در مورد پلازمید Ti صحبت می‌کنیم.

f) در یک پلازمید **ممکن است** ژن مقاوم به آنتی بیوتیک وجود نداشته باشد. از طرف دیگر **ممکن است** ژن مقاوم به آنتی بیوتیک **خاصی** را داشته باشد.

تذکر: این‌جوری نیست که یک پلازمید ژن مقاوم به همه‌ی آنتی بیوتیک‌ها را داشته باشد.

نکته: ژن مقاوم به آنتی بیوتیک در ایران سازمان‌دهی شده است و دارای بخش تنظیم کننده است که رونویسی از ژن مذکور را کنترل می‌کند.

g) پلازمید منشأ باکتریایی دارد و در یوکاریوت‌ها وجود ندارد.

h) **در بعضی** از پلازمیدها جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده وجود دارد.

i) **در بعضی** از پلازمیدها **ممکن است** بیش از یک جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده وجود داشته باشد.

j) فقط در **بعضی** از پلازمیدها جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده‌ی ECORI وجود دارد نه در همگی

تذکر: آنزیم محدود کننده انواع مختلفی دارند. اکوRیک، فقط یک نمونه از آنزیم محدود کننده است که بعداً درباره‌اش حرف می‌زنیم.

k) **چندتا مطلب دیگر درباره‌ی پلازمیدها:**

چون DNA حلقوی است پس:

۱- یک جایگاه آغاز همانندسازی و یک جایگاه پایان همانندسازی دارد.

ترکیب: به ازای یک جایگاه آغاز همانندسازی **معمولاً** (نه همیشه!) ۲ دوراهی همانندسازی تشکیل می‌شود.

۲- دارای چندین بخش تنظیمی (راه‌انداز و اپراتور)، چندین جایگاه آغاز رونویسی و پایان رونویسی است.

۳- ژن‌های آن توسط RNA پلی‌مراز پروکاریوتی رونویسی می‌شوند.

۴- پلازمید توسط DNA پلی‌مراز و هلیکاز خود باکتری همانندسازی می‌شود.

۵- ژن‌های آن درون اپران قرار گرفته است.

۶- در آن‌ها توالی افزاینده وجود ندارد و عوامل رونویسی (مثلاً فعال کننده‌ها) در بیان ژن‌های آن نقش ندارند.

۲ باکتریوفاژها

a) باکتریوفاژها **گروهی** از **ویروس ها** هستند که میزبان آن‌ها باکتری است.

تذکر: باکتریوفاژ باکتری نیست!

b) مهندسان ژنتیک ژن خارجی را به درون DNA باکتریوفاژ وارد می‌کنند و **باکتریوفاژن ژن مورد نظر را به همراه ژن خود به درون باکتری تزریق می‌کند.**

c) **درباره‌ی باکتریوفاژ باید مطالب زیر را بدانید:**

۱- نوعی ویروس با میزبان باکتریایی است.

۲- دارای کپسید چندوجهی و دم مارپیچی هستند.

۳- نوکلئیک اسید آن درون کپسید قرار گرفته است.

۴- به منظور آلوده کردن باکتری، ابتدا به باکتری متصل می‌شوند و سپس نوکلئیک اسید خود را به درون میزبان (باکتری) تزریق می‌کنند.

نکته: نوکلئیک اسید باکتریوفاژ، باکتری را وادار به تولید ژنوم و پروتئین ویروسی می‌کند. بنابراین درون باکتری، DNA باکتریوفاژ تکثیر می‌یابد و کپسید باکتریوفاژ تولید می‌شود.

۳ سایر ویروس‌ها

به غیر از باکتریوفاژها از سایر ویروس‌ها که DNAدار هستند و و یژگی‌های مورد نظر ما را دارند؛ می‌توان استفاده کرد.

مثال: در طی تولید واکسن هرپس تناسلی از ویروس آبله‌ی گاوی استفاده می‌شود. **ویروس آبله گاوی نوعی وکتور است.**

چند مطلب کلی درباره‌ی ویروس‌ها:

a) همه‌ی ویژگی حیات را ندارند.

b) زنده نیستند

c) رشد نمی‌کنند.

d) هومئوستازی (حالت پایدار) ندارند.

e) متابولیسمی درون آن‌ها رخ نمی‌دهد.

نکته: ویروس‌ها آنزیم‌های متابولیسمی، آنزیم رونویسی کننده (RNA پلی مراز)، آنزیم همانندسازی کننده (DNAپلی‌مراز و هلیکاز)، آنزیم سنتز کننده‌ی ATP و ... ندارند.

f) در ویروس‌ها اپران، ژن آنزیم محدود کننده، توالی افزاینده، عوامل رونویسی، پروتئین مهار کننده، ریبوزوم، ژن رمزکننده‌ی اینترفرون و پرفورین و ... وجود ندارد.

g) **انواع ویروس‌ها بر اساس نوع نوکلئیک اسید:**

RNAدار	**HIV -TMV-** *آنفلوآنزا- هاری*
DNAدار	*آبله مرغان- زگیل- هرپس تناسلی- آبله‌ی گاوی- باکتریوفاژ*

h) **موارد زیر همگی ویروس‌های پوشش‌دار هستند:**

آنفلوآنزا- HIV- هرپس تناسلی- آبله‌ی گاوی

i) **ویروس‌های زیر پوشش ندارند:**

آدنوویروس- باکتریوفاژ- TMV

j) **به طور کلی ویروس شامل موارد زیر است:**

ویروس= کپسید + DNA یاRNA

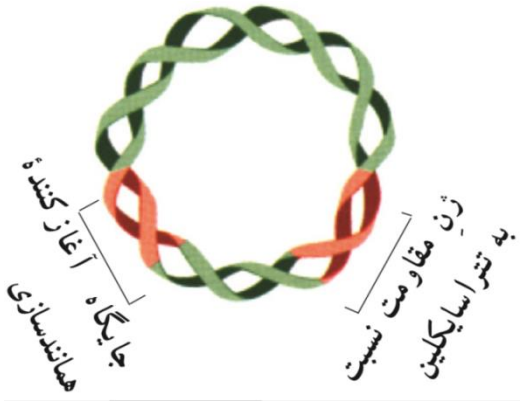
نکته: آنتی‌بیوتیک‌ها بر ویروس‌ها بی‌تأثیر هستند.

۴ ویژگی وکتورها

a) توانایی آلوده کردن سلول میزبانی که می‌خواهیم در آن ژن خارجی را وارد کنیم را داشته باشد.

b) دارای یک جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده باشد.

c) توانایی ایجاد بیماری در سلول میزبان نداشته باشد.



نکته: اگر وکتور توانایی ایجاد بیماری در سلول میزبان دارد باید ژن بیماری‌زای آن را خارج کنیم.

d) باید از جنس DNA باشد.

نکته: اگر نوکلئیک اسید خارجی از جنس DNA باشد باید از وکتوری استفاده گردد که از جنس DNA است.

موارد زیر نمی‌توانند وکتوز باشند:

۱- ویروس‌های RNAدار

۲- ویروئیدها (از جنس RNA است)

۳- پریون (از جنس پروتئین و عامل جنون گاوی)

نکته: موارد بالا جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده ندارند و نمی‌توان ژن خارجی را در آن‌ها قرار داد.

تذکر:استفاده از وکتور تنها یکی از راه‌های انتقال ژن به سلول میزبان است. راه‌های دیگری نیز وجود دارد که بعداً می‌گم.

سؤال: درستی یا نادرستی عبارت‌های زیر را مشخص کنید:

الف) جایگاه آغاز همانندسازی بر خلاف ژن مقاومت به آنتی بیوتیک در همه‌ی پلازمیدها یافت می‌شود.

ب) هر پلازمیدی که دارای جایگاه تشخیص آنزیم است فاقد توالی افزاینده می‌باشد.

ج) در همه‌ی انواع DNAهای باکتریایی ۲ دوراهی همانندسازی تشکیل می‌شود.

د) در یک باکتری به تعداد مولکول‌های DNA جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده وجود دارد.

هـ) DNA حلقوی کمکی در باکتری می‌تواند، دارای سرعت همانند سازی بیش‌تر از میزبان باشد.

و) همه‌ی ژن‌های پلازمید در DNA اصلی باکتری واجد بخش تنظیمی می‌باشد.

ز) بخش تنظیمی ژن مقاومت به آنتی بیوتیک مانند اپران لک واجد اپراتور می‌باشد.

پاسخ:

درست: الف- ب- هـ- ز

نادرست: ج- د- و

آنزیم‌های محدود کننده

۱ ویژگی آنزیم‌های محدود کننده

a) توسط باکتری ساخته می شود. پس ژن رمز کننده‌ی آن درون اپران (DNA حلقوی) است.

ترکیب: آنزیم محدود کننده از جنس پروتئین است (دارای آمینواسید و پیوند پپتیدی می‌باشد) و توسط ریبوزوم‌های باکتریایی (کوچک با ساختار ساده) ساخته می‌شود.

b) برای بریدن DNA (نه RNA و پروتئین) استفاده می‌شود.

c) آنزیم‌های محدود کننده **توالی کوتاه و خاصی از DNA** را شناسایی می‌کنند و سپس برش می‌دهند.

نکته: منظور از برش DNA، **شکستن پیوند فسفودی استر** است.

نکته: توالی خاصی که آنزیم آن را می شناسد، **جایگاه تشخیص آنزیم** نام دارد.

d) آنزیم محدود کننده بر پریون (عامل جنون گاوی)، ویروئید (از جنس RNA) ویروس‌های RNAدار (TMV , HIV ، آنفلوآنزا و هاری) بی تأثیر است.

e) با اثر **بیشتر** آنزیم‌های محدود کننده (بر جایگاه تشخیص آنـزیم). **قطعاتی از DNA کوتاه تک رشته‌ای در هـر دو انتهـا تولید می‌شود که با یکدیگر مکمل هستند.**

نکته: به دو انتهای مذکور **انتهای چسبنده** می‌گویند.

تذکر: در اثر فعالیت **بعضی** از آنزیم‌های محدود کننده انتهای چسبنده ایجاد نمی‌شود. در این حالت محل شکستن پیوند فسفودی اسـتر در هر دو رشته‌ی DNA روبروی یکدیگر قرار دارد.

f) در طبیعت انواعی از آنزیم‌های محدود کننده وجود دارد. پس جایگاه تشخیص این آنزیم‌ها نیز متنوع است.

g) هر آنزیم محدود کننده جایگاه تشخیص آنزیم مخصوص به خود را دارد و همیشه توالی جایگاه تشـخیص آن مشـخص و ثابـت است.

نکته: آنزیم محدود کننده و DNA پلی‌مراز (در حین ویرایش) توانایی **شکستن پیوند فسفودی استر** دارند.

۲ جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده

a) از جنس DNA است.

b) تعداد نوکلئوتیدهای آن کم است.

c) می‌تواند در DNA خطی، DNA حلقوی و DNA ویروس وجود داشته باشد.

d) **حتماً** تعداد پورین‌ها و پیریمیدن‌ها در آن برابر است.

e) توالی خاصی از DNA است که توسط آنزیم محدود کننده شناسایی می‌شود.

f) توالی دو رشته‌ای جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده **عکس یکدیگر** است.

g) جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده دارای **تقارن معکوس** است.

مثال: جایگاه تشخیص ECORI :

h) با اثر آنزیم محدودکننده بر جایگاه تشخیص، **دو** پیوند فسفودی استر می‌شکند.

i) اگر محل شکستن پیوند فسفودی استر روبروی یکدیگر نباشد، پیوند هیدروژنی شکسته شده و انتهای چسبنده ایجاد می‌شود.

نکته: در اثر فعالیت **بیش‌تر** آنزیم‌های محدود کننده انتهای چسبنده ایجاد می‌شود.

j) اگر محل شکستن پیوند فسفودی استر روبروی یکدیگر باشد، دیگر پیوند هیدروژنی شکسته نشده و انتهای چسبنده تولید نمی‌شود.

نکته: در اثر فعالیت **تعداد کمی** از آنزیم‌های محدود کننده انتهای چسبنده تولید نمی‌شود.

نکته: در مهندسی ژنتیک از آنزیم‌های محدود کننده‌ای استفاده می‌شود که انتهای چسبنده تولید می‌کنند.

k) **درباره‌ی انتهای چسبنده مطالب زیر را آوردیم:**

۱- **همگی** تک رشته‌ای و از جنس DNA هستند.

۲- در آن تعداد پورین‌ها با پیریمیدن‌ها برابر است.(در سطح کتاب درسی)

۳- یا از **۲ نوع** نوکلئوتید و یا **۴ نوع** نوکلئوتید ساخته شده است.

۴- در سطح کتاب درسی نیمی از بازهای هر انتهای چسبنده مکمل نیم دیگری از بازهای همان انتهای چسبنده است.

۵- انتهای چسبنده‌ای که حاصل فعالیت یک نوع آنزیم محدود کننده‌اند، مکمل یکدیگر بوده و توسط **پیوند هیدروژنی** می‌توانند به یکدیگر متصل شوند.

۳ آنزیم ECORI

a) نوعی آنزیم محدود کننده است که توسط اکلای سنتز می‌شود.

b) جایگاه تشخیص آنزیم ECORI، توالی GAATTC در DNA است.

c) آنزیم ECORI پس از شناسایی توالی GAATTC، آن را برش می‌دهد.

نکته: این برش (شکستن پیوند فسفودی استر) بین نوکلئوتیدهای (نه بازهای!) A,G است.

نکته: در جایگاه تشخیص ECORI ۱۲ نوکلئوتید، ۴ نوع نوکلئوتید و ۱۴ پیوند هیدروژنی وجود دارد. در ضمن در این جایگاه نصف بازها پورینی و نصف دیگر پیریمیدنی هستند.

d) همان‌طور که مشاهده می‌کنید محل شکستن پیوند فسفودی استر در جایگاه تشخیص آنزیم ECORI روبروی یکدیگر نیستند و پس از اثر آنزیم، در هر دو انتهای پیوند هیدروژنی شکسته شده و انتهای چسبنده‌ی AATT تولید می‌شود که تک رشته‌ای هستند.

نکته: پیوند هیدروژنی بین نوکلئوتیدهای G,C در جایگاه تشخیص آنزیم ECORI **شکسته نمی‌شود.**

e) **درباره‌ی انتهای چسبنده‌ی ECORI باید مطالب زیر را بدانید:**

۱- مانند سایر انتهای چسبنده تک رشته‌ای و از جنس DNA است.

۲- دارای دو نوع نوکلئوتید آدنین‌دار و تیمین‌دار است.

نکته: نصف بازهای آن دو حلقه‌ای (A) و نصف دیگر یک حلقه‌ای (T) است.

۳- در هر دو انتهای چسبنده تعداد مونومرهای آن‌ها (نوکلئوتیدهای آن‌ها) برابرا ست.

سؤال: درستی یا نادرستی عبارت‌های زیر را بنویسید:

الف) در اثر فعالیت همه‌ی آنزیم‌های محدود کننده انتهای چسبنده ایجاد می‌شود.

ب) ژن رمز کننده‌ی آنزیم‌های محدودکننده درون اپران سازمان یافته است.

ج) واحد سازنده‌ی آنزیم محدود کننده مشابه پیش ماده‌ی آن می‌باشد.

د) در همه‌ی مولکول‌های حاصل از اثر آنزیم محدود کننده تعداد نوکلئوتیدها برابر می‌باشد.

هـ) با اثر مستقیم آنزیم محدود کننده بر پیوند هیدروژنی، دو رشته‌ی DNA از یکدیگر جدا می‌شوند.

و) توالی نوکلئوتیدی جایگاه تشخیص همه‌ی آنزیم‌های محدود کننده در انواعی از DNA ها مشابه می‌باشد.

ز) در طی فعالیت همه‌ی آنزیم‌های محدود کننده در هر جایگاه تشخیص آنزیم، ۲ پیوند فسفودی استر شکسته می‌شود.

پاسخ:

درست: ب-ز

نادرست: الف- ج- د- هـ- و

۴ بازی با ریاضی

سؤال ۱: آنزیم ECORI بر DNA حلقوی که دارای ۳ جایگاه تشخیص آنزیم است، اثر کرده است. با توجه به مطلب مذکور موارد زیر را محاسبه کنید:

الف) تعداد پیوند فسفودی استر شکسته شده؟

ب) تعداد انتهای چسبنده ایجاد شده؟

ج) تعداد پیوند هیدروژنی شکسته شده؟

د) تعداد قطعات DNA تشکیل شده؟

نکته: اگر یک DNA دارای n عدد جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده باشد. در صورت حلقوی بودن n عدد قطعه و در صورت خطی بودن n+1 قطعه ایجاد می‌شود و 2n پیوند فسفودی استر شکسته شده و 2n انتهای چسبنده ایجاد می‌شود.

پاسخ:

*الف) ۶ عدد (**2n**) ب) ۶ عدد (**2n**) ج) ۲۴ عدد د) ۳ عدد (**n**)*

سؤال ۲: حال سؤال بالا را برای DNA خطی محاسبه کنید:

پاسخ:

*الف) ۶ عدد (**2n**) ب) ۶ عدد (**2n**) ج) ۲۴ عدد د) ۴ عدد (**n+1**)*

نکته: در یک مولکول DNA هر چقدر تعداد جایگاه تشخیص آنزیم بیش‌تر باشد، تعداد قطعات DNA ایجاد شده بیش‌تر بوده و اندازه‌ی آن‌ها کوچک‌تر است.

ترکیب: در حین شکستن پیوند فسفودی استر آب مصرف می‌شود.

سؤال ۳: نوعی آنزیم محدود کننده پیوند فسفودی استر را بین نوکلئوتیدهای گوانین‌دار و تیمین‌دار برش می‌دهد. توالی زیر نیز بخشی از مولکول DNA است. حال با توجه به مطالب مذکور به سؤالات زیر پاسخ دهید:

CGTGTCTAGACTGC

الف) توالی جایگاه تشخیص آنزیم را بنویسید.

ب) با اثر آنزیم چند تا پیوند فسفودی استر شکسته شده و چند مولکول آب مصرف می‌شود؟

ج) تعداد پیوندهای هیدروژنی شکسته شده را بنویسید؟

د) تعداد بازهای پورین و پیریمیدن در جایگاه تشخیص محاسبه کنید؟

هـ) تعداد حلقه‌های آلی در هر انتهای چسبنده چند عدد می‌باشد؟

و) تعداد نولکئوتیدهای انتهای چسبنده را بنویسید؟

پاسخ:

ابتدا رشته‌ی مکمل را بنویسید:

CGTGTCTAGACTGC
GCACAGATCTGACG

الف) در جایگاه تشخیص توالی رشته‌ها عکس یکدیگر است:

GTCTAGAC
CAGATCTG

*ب) ۲ پیوند فسفودی استر شکسته شده (بین **T,G**) و ۲ مولکول آب مصرف می‌شود.*

ج) ۱۴ عدد

د) ۸ عدد پورین و ۸ عدد پیریمیدن

نکته: در DNA تعداد پورین‌ها با پیریمیدین‌ها برابر است.

یادآوری: در نوکلئوتید A دار و G دار ۳ حلقه‌ی آلی و در نوکلئوتیدها T دار و C دار ۲ حلقه‌ی آلی وجود دارد.

توالی انتهای چسبنده: **AG AT CT**

تعداد حلقه های آلی $= 3(A)+3(G)+3(A)+2(T)+2(C)+2(T)=15$

نکته: تعداد نوکلئوتیدها در همه‌ی انتهای چسبنده زوج می‌باشد (در سطح کتاب درسی) و در هر انتهای چسبنده تعداد پورین‌ها (دو حلقه‌ای‌ها) با پیریمیدن‌ها (یک حلقه‌ای‌ها) برابر است.

یادآوری: یک حلقه‌ی قند+ تعداد حلقه‌های باز آلی= تعداد حلقه‌های آلی در نوکلئوتیدها

و) توالی انتهای چسبنده AGATCT بوده و از ۶ تا نوکلئوتید تشکیل شده است.

سؤال ۴: اگر توالی زیر بخشی از جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده‌ای باشد و آنزیم مذکور پیوند بین نوکلئوتیدهای T,G را برش دهد به سؤال‌های زیر پاسخ دهید:

GTT1T345

الف) توالی جایگاه تشخیص را بنویسید؟

ب) تعداد نوکلئوتیدهای انتهای چسبنده را محاسبه کنید؟

ج) تعداد پیوندهای هیدروژنی و فسفودی استر شکسته شده را بنویسید؟

پاسخ

الف)

GTTATAAC
CAATATTG

*ب) انتهای چسبنده **TTATAA**، است که ۶ عدد نوکلئوتید دارد.*

ج) ۱۲ پیوند هیدروژنی و ۲ عدد پیوند فسفودی استر شکسته شده است.

مهندسی ژنتیک

یادآوری: به فرایند دستورزی در ژن‌ها می‌گن **مهندسی ژنتیک**

یادآوری: یکی از مهم‌ترین اهداف مهندسی ژنتیک **تولید ژن یا فرآورده‌های آن** به مقدار انبوه است.

تا این‌جا با وکتور، آنزیم محدود کننده، جایگاه تشخیص آنزیم و انتهای چسبنده آشنا شدید. و به طور خلاصه از مراحل مهندسی ژنتیک در تولید ژن به مقدار انبوه آشنایی دارید. حال می‌خواهیم از طریق مهندسی ژنتیک مقدار زیادی ژن انسولین تولید کنیم.

ترکیب: ژن انسولین در همه‌ی سلول‌های هسته‌دار بدن انسان وجود دارد. اما این ژن فقط در بعضی از سلول‌های جزایر لانگرهانس (در پانکراس) بیان می‌شود. هورمون انسولین کاهنده‌ی قند خون بوده و در **اغلب** سلول‌های بدن (به جز مغز) دارای گیرنده است. در ضمن به منظور سنتز انسولین از روی یک ژن رونویسی صورت می گیرد.

مراحل تولید ژن انسولین به روش مهندسی ژنتیک:

۱- برش DNA
۲- تولید DNA نوترکیب
۳- کلون کردن ژن
۴- غربال کردن
۵- استخراج ژن

۱ برش DNA

۱- ابتدا کروموزوم انسانی که دارای ژن انسولین است از سایر کروموزوم‌ها جدا می‌کنیم.

نکته: در همه‌ی سلول‌های هسته‌دار انسان ژن رمز کننده‌ی انسولین وجود دارد.

نکته: در دو طرف ژن انسولین برای آنزیم محدود کننده جایگاه تشخیص **ECORI** وجود دارد.

یادآوری: جایگاه تشخیص ECORI، توالی $\begin{matrix} GAATTC \\ CTTAAG \end{matrix}$ در DNA است. این آنزیم پیوند بین نوکلئوتیدهای A,G را می‌شکند.

تذکر: در ژن رمز کننده‌ی انسولین (ژن خارجی) برای ECORI هیچ‌گاه جایگاه تشخیص آنزیم $\left(\begin{matrix} GAATTC \\ CTTAAG \end{matrix}\right)$ وجود ندارد.

۲- در مرحله بعد آنزیم ECORI را بر کروموزوم انسانی اثر داده و آن را تکه تکه می‌کنیم.

تذکر: در کروموزوم انسانی برای ECORI تعداد زیادی جایگاه تشخیص (توالی GAATTC) وجود دارد. بنابراین تعداد زیادی قطعات DNA تولید می‌شود. ولی مواظب باشید. **در ژن انسولین توالی GAATTC (جایگاه تشخیص ECORI) وجود ندارد.**

نکته: بعضی از قطعات حاوی ژن رمزکننده‌ی انسولین بوده و به ازای هر جایگاه تشخیص آنزیم ۲ عدد انتهایی چسبنده (AATT یا TTAA) ایجاد می‌شود..

نکته: همه‌ی قطعات ایجاد شده در اثر فعالیت ECORI دارای انتهای چسبنده هستند.

یادآوری: در جایگاه تشخیص ECORI، ۲ پیوند فسفودی استر (بین G,A) ۸ پیوند هیدروژنی می‌شکند و دو انتهای چسبنده تولید می‌شود.

۳- در مرحله‌ی بعد همان آنزیم محدود کننده (ECORI) را بر یک پلازمید که فقط یک جایگاه تشخیص آنزیم (GAATTC) دارد، اثر می‌دهیم. در این حالت مولکول پلازمید از حالت حلقوی خارج شده و خطی می‌شود و دو سر آن انتهای چسبنده (AATT) وجود دارد.

نکته: در طی انجام مهندسی ژنتیک ابتدا ژن خارجی و سپس آنزیم محدود کننده‌ی مناسب انتخاب می‌کنیم و بعد با توجه به نوع آنزیم محدود کننده به دنبال وکتور مناسب می‌گردیم.

تذکر: وکتوری که انتخاب می‌کنیم حتماً باید یک جایگاه تشخیص آنزیم داشته باشد. اگر بیش‌تر از یک جایگاه تشخیص داشته باشد، با اثر آنزیم محدود کننده، وکتور تکه تکه شده و دیگر به درد نمی‌خورد.

نکته: وکتوری که انتخاب می‌شود حتماً باید دارای ژن مقاوم به آنتی بیوتیک باشد و جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده، در جایگاه آغاز همانندسازی، پایان همانندسازی و ژن مقاومت به آنتی بیوتیک قرار نداشته باشد.

۲ تولید DNA نوترکیب

۱- در مرحله‌ی قبل (برش DNA) با استفاده از **یک نوع آنزیم محدود کننده‌ی خاص**، ژن مورد نظر را از DNA جدا کردیم و پلازمید (وکتور) را برش دادیم (قطع پیوند فسفودی استر). بنابراین تا این‌جا فقط از یک نوع آنزیم استفاده کردیم. (آنزیم محدود کننده).

۲- در این مرحله پلازمید و DNA برش داده شده با ECORI را در مجاورت یکدیگر قرار می‌دهیم.

۳- انتهای چسبنده‌ی پلازمید به انتهای چسبنده‌ی تکه‌ی DNA (که دارای ژن انسولین است)، متصل می‌شود.

نکته: اتصال انتهای چسبنده پلازمید به انتهای چسبنده‌ی ژن خارجی توسط پیوند هیدروژنی صورت می‌گیرد نه فسفودی استر.

۴- در مرحله‌ی بعد به منظور این‌که اتصال دائمی شود از **آنزیم لیگاز** استفاده می‌کنیم. **آنزیم لیگاز** بین پلازمید و ژن خارجی (انسولین) پیوند فسفودی استر (کوالان) برقرار می‌کند و اتصال بین دو مولکول DNA محکم می‌شود.

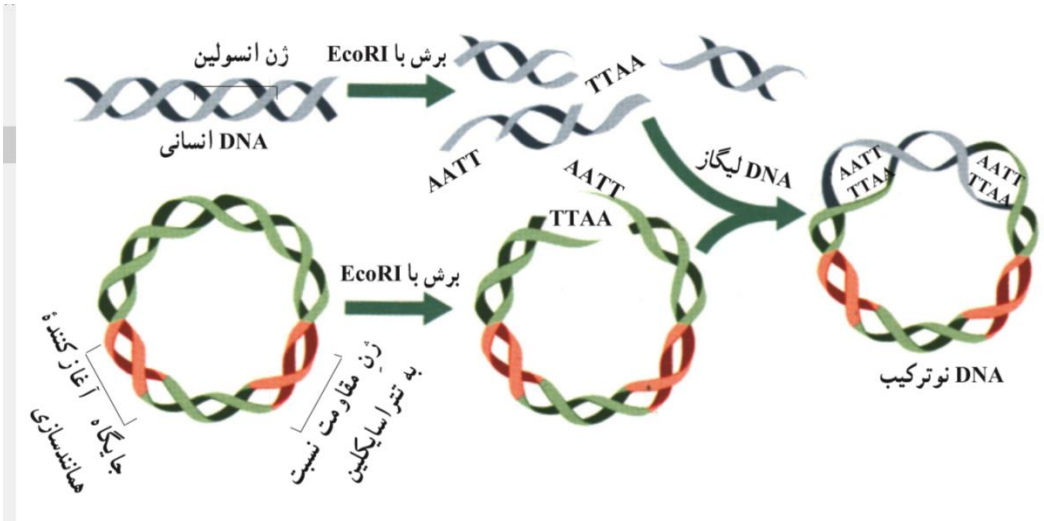
تذکر: پیوند **بین دو انتهای چسبنده هیدروژنی بوده و** بدون حضور آنزیم تشکیل می‌شود. اما **پیوند بین دو مولکول DNA** (**DNA** خارجی و وکتور) **فسفودی استر بوده و** توسط **آنزیم لیگاز** صورت می‌گیرد.

۵- وقتی ژن مورد نظر (مثلاً ژن انسولین)، که از این پس آن را **ژن خارجی** می‌نامیم، درون پلازمید (وکتور) قرار می‌گیرد، در واقع DNA جدیدی ساخته می‌شود که از ترکیب دو DNA متفاوت، **یکی ژن خارجی** (مثلاً ژن انسولین) و دیگری **پلازمید**، حاصل شده است. این DNA را **DNA نوترکیب** می‌نامند.

ساختن DNA نوترکیب، یکی از اصلی‌ترین مراحل مهندسی ژنتیک است. از این‌رو مهندسی ژنتیک را فناوری DNA نوترکیب نیز می‌نامند.

نکته: در طول فرایند تولید DNA نوترکیب از دو نوع آنزیم (آنزیم محدود کننده و لیگاز) استفاده شد.

۶- **DNA نوترکیب دارای ژن انسولین در یک نگاه**



۷- این بحث را نمی‌خواستم بگم اما یک حس عجیبی نداشت....

در مرحله‌ی تولید DNA نوترکیب، وقتی تکه‌های DNA (در کنار پلازمیدهای برش داده شده قرار می‌گیرد، **امکان دارد موارد زیر رخ دهد:**

a) اتصال پلازمید به قطعه‌ی DNAای که ژن انسولین (ژن خارجی) دارد.

نکته: مهندسان ژنتیک به مورد a نیاز دارند.

b) اتصال پلازمید به قطعه‌های DNAای که ژن مورد نظرمان را ندارند.

c) اتصال پلازمید به پلازمید

توجه: بعداً در طی فرایندهایی که به شما ربط ندارد مورد a را از موارد c,b جدا می‌کنند.

۳ کلون کردن ژن

نکته: وقتی از یک ژن نسخه‌های یکسان متعدد ساخته می‌شود، **می‌گویند آن ژن، کلون شده است.**

۱- DNA نوترکیب را در مجاورت باکتری ها قرار می‌دهند تا آن‌ها را جذب کنند.

نکته: باید از باکتری‌هایی استفاده کرد که پلازمید ندارند یعنی فقط یک DNA حلقوی اصلی دارند.

نکته: **تعداد کمی** از باکتری‌ها موفق به جذب DNA نوترکیب می‌شوند.

۲- وقتی DNA نوترکیب توسط باکتری جذب شد، باکتری شروع به همانند سازی آن‌ها می‌کند.

ترکیب: در طی همانندسازی DNA نوترکیب، آنزیم‌های DNA پلی‌مراز و هلیکاز (وظیفه‌ی آن شکستن پیوند هیدروژنی در DNA است) نقش دارند.

نکته: DNA نوترکیب می‌تواند مستقل از DNA اصلی همانند سازی کنند. بنابراین **بعد از مدتی در یک باکتری ممکن است بیش از یک DNA نوترکیب وجود داشته باشد.**

ترکیب: DNAپلی‌مراز در طی همانند سازی ممکن است عمل ویرایش انجام دهد. بنابراین در طی همانندسازی حتماً پیوند هیدروژنی شکسته و تشکیل، پیوند فسفودی استر حتماً تشکیل می‌شود. اما اگر ویرایش نیز صورت گیرد حتماً پیوند فسفودی استرنیز شکسته می‌شود.

ترکیب: تشکیل و شکستن پیوند فسفودی استر در طی همانندسازی توسط DNAپلی‌مراز صورت می‌گیرد.

ترکیب: در هر DNA حلقوی **یک جایگاه آغاز همانندسازی و یک جایگاه پایان همانندسازی** وجود دارد و **معمولاً** به ازای هر جایگاه آغاز همانند سازی ۲ دوراهی همانند سازی تشکیل می شود. در این حالت فرایند همانندسازی دو جهته بوده و جایگاه پایان همانندسازی مقابل جایگاه آغاز همانند سازی قرار دارد.

۳- بعد از مدتی که همانندسازی صورت گرفت، از DNA نوترکیب نسخه‌های زیاد و یکسان تولید می‌شود. به این می‌گن **کلون کردن ژن.**

نکته: در طی کلون کردن ژن در باکتری، آنزیم‌های باکتریایی فعالیت می‌کنند این یعنی آنزیم‌های باکتریایی از روی ژن یوکاریوتی (ژن انسولین) همانند سازی می‌کنند.

تذکر: در یک باکتری ممکن است DNA نوترکیب بیش‌تر از DNA اصلی همانندسازی شود پس **در یک باکتری ممکن است ژن انسولین و ژن مقاومت به آنتی بیوتیک بیش‌تر از ژن‌های DNA اصلی مضاعف شوند.**

نکته: چون در باکتری ژن خارجی (ژن انسولین) وجود دارد. به باکتری‌هایی که DNA نوترکیب جذب کرده‌اند می‌گن **جاندار تراژنی.** (در سطح کتاب درسی)

۴ غربال کردن

نکته: منظور از غربال کردن، جدا کردن باکتری‌های دارای DNA نوترکیب از باکتری‌های بدون DNA نوترکیب است.

یادآوری: در DNA نوترکیب ژن مقاومت به آنتی بیوتیک خاص وجود دارد. برای مثال در DNA نوترکیب که دارای ژن انسولین است، ژن مقاومت به **تتراسایکلین** وجود دارد.

۱- در این مرحله به محیط کشت نوع خاصی از آنتی بیوتیک که ژن رمزکننده‌ی آن در DNA نوترکیب وجود دارد، اضافه می‌کنیم.

نکته: در DNA نوترکیب دارای ژن انسولین، ژن مقاومت نسبت به **تتراسایکلین** وجود دارد.

۲- پس از اضافه کردن تتراسایکلین به محیط کشت، باکتری‌هایی که DNA نوترکیب را ندارند، می‌میرند. و باکتری‌هایی که DNA نوترکیب (که دارای ژن انسولین است) دارند، زنده می‌مانند.

مفهوم: پس از اضافه کردن تتراسایکلین به محیط کشت مذکور، RNAپلی‌مراز پروکاریوتی به راه‌انداز وصل شده و از روی ژن مقاومت به تتراسایکلین شروع به رونویسی می‌کند و mRNA ایجاد می‌شود. mRNA مذکور وارد ریبوزوم باکتری (کوچک با ساختار ساده) شده و از روی آن پروتئین مقاومت به تتراسایکلین ساخته می‌شود. این پروتئین باعث جلوگیری از مرگ باکتری در برابر تتراسایکلین می‌گردد.

ترکیب: آنتی بیوتیک‌ها با فرایندهای سلولی تداخل دارند مثلاً **اریترومایسین** دارویی است که خاصیت آنتی بیوتیک دارد. این دارو از پروتئین‌سازی در سلول‌های باکتری جلوگیری می‌کند.

نکته: در مرحله‌ی غربال کردن، آنزیم RNAپلی‌مراز پروکاریوتی و ریبوزوم باکتری فعالیت می‌کنند و ژن مقاومت به نوع خاصی از آنتی بیوتیک روشن می‌شود.

نکته: در بخش تنظیمی ژن مقاوم به تتراسایکلین (و سایر آنتی بیوتیک‌ها) **اپراتور وجود دارد که بیان ژن مذکور را کنترل می‌کند.**

تذکر: در این مرحله از مهندسی ژنتیک، پروتئین مهار کننده‌ی (تنظیم کننده) ژن مقاومت به آنتی بیوتیک، از اپراتور جدا شده و ژن مذکور بیان می‌شود.

نکته: وجود ژن مقاوم به آنتی بیوتیک در باکتری‌ها سبب **افزایش شانس بقای آن‌ها در طول حیات** شده است.

تذکر: هر ژن مقاومت به آنتی بیوتیک، باکتری را نسبت به یک آنتی بیوتیک خاص، مقاومت می‌کند. برای مثال یک ژن باکتری را در برابر تتراسایکلین و ژن دیگر در برابر آنتی بیوتیک دیگر (مثلاً اریترومایسین) مقاوم می‌کند. **این‌جوری نیست که یک ژن خاص، باکتری را در برابر همه‌ی آنتی بیوتیک‌ها مقاوم کند.**

سؤال: درستی یا نادرستی عبارت‌های زیر را تعیین کنید؟

الف) در مرحله‌ی کلون شدن ژن، همه‌ی باکتری موفق به جذب DNA نوترکیب می‌شوند.

ب) تعدادی از باکتری‌ها که در مجاورت DNA نوترکیب قرار می‌گیرند، واجد گروه خاصی از پلازمیدها هستند.

ج) در مرحله‌ی کلون شدن ژن، DNA یوکاریوتی توسط آنزیم پروکاریوتی همانندسازی می‌شود.

د) در DNA نوترکیب تعداد جایگاه ECORI با تعداد ژن مقاومت به تتراسایکلین برابر است.

هـ) در مرحله‌ی غربال کردن، در همه‌ی باکتری‌ها از روی ژن مقاومت به آنتی بیوتیک رونویسی صورت می‌گیرد.

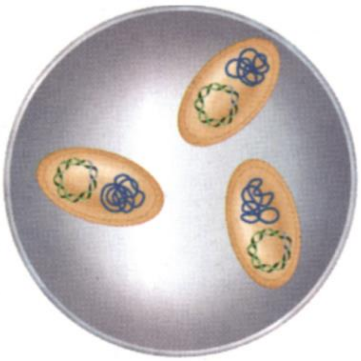
و) در صورت غیرفعال شدن rRNA در مرحله‌ی غربال کردن، همه‌ی باکتری می‌میرند.

ز) در مرحله‌ی غربال کردن با تغییر شرایط محیطی ژن خاصی در باکتری بیان می‌شود.

پاسخ:

درست: ج- و- ز

نادرست: الف- ب- د- هـ



شکل ۴ــ۲ــ غربال کردن. فقط سلول‌هایی که وکتور را جذب کرده‌اند، نسبت به تتراسایکلین مقاوم‌اند و بنابراین وقتی تتراسایکلین به آنها اضافه شود، زنده می‌مانند.

۵ استخراج ژن

استخراج ژن از DNA نوترکیب شامل مراحل زیر است:

۱- ابتدا DNA نوترکیب را از باکتری خارج می‌کنیم.

۲- سپس با استفاده از **همان آنزیم محدود کننده** (که قبلاً برای تولید DNA نوترکیب استفاده کرده بودیم)، پیوند فسفودی استر بین ژن خارجی (ژن انسولین) و پلازمید (وکتور) در DNA نوترکیب را هیدرولیز می‌کنیم.

نکته: با اثر آنزیم محدود کننده‌ی ECORI بر DNA نوترکیب ۴ پیوند فسفودی استر و ۱۶ پیوند هیدروژنی می‌شکند و دو قطعه‌ی DNA که اندازه‌های آن متفاوت است ایجاد می‌شود.

نکته: DNA کوچک (که دو انتهای چسبنده دارد)، همان ژن خارجی (انسولین) و DNA بزرگ (که دو انتهای چسبنده دارد)، پلازمید است.

۳- در مرحله‌ی بعد با استفاده از **الکتروفورز**، قطعات کوچک و بزرگ DNA را از یکدیگر جدا می‌کنیم.

ترکیب: مولکول DNA دارای فسفات (po_4^{3-}) است و بار آن منفی

۴- درباره‌ی الکتروفورز در ژن باید مطالب زیر را بدانید:

a- در الکتروفورز جدا کردن قطعات به کمک بار و بر اساس اندازه ی آن‌ها صورت می‌گیرد که بعداً توضیح می‌دهم.

b- ژل، ورقه‌ای مستطیلی شکل ژلاتینی است.

c- در ژل منافذ بسیار ریزی وجود دارد.

d- در یک سمت ژل (بالای ژل) چاهک‌هایی وجود دارد.

نکته: به درون این چاهک‌ها **DNA** یا **پروتئین** می‌ریزند که بر اساس اندازه جدا کنند.

e- در بالای ژل (نزدیک چاهک‌ها) الکترود منفی قرار دارد.

f- در پایین ژل (دور از چاهک‌ها) الکترود مثبت قرار دارد.

g- اگر این دو الکترود رابه باتری (یا جریان الکتریکی) وصل کنند، در ژل میدان الکتریکی ایجاد می‌شود. حال اگر یک مولکولی با بار منفی در چاهک باشد از قطب منفی (از چاهک‌ها) به طرف قطب مثبت حرکت می‌کند. و از منافذ ریز موجود در ژل عبور می‌کند.

۵- برگردیم به ادامه‌ی کارمان! حال مخلوط ژن خارجی (ژن انسولین) و پلازمید را به درون چاهک‌های ژل (نزدیک قطب منفی) می‌ریزیم و سپس جریان الکتریکی را برقرار می‌کنیم.

۶- پس از برقراری جریان الکتریکی در ژل میدان الکتریکی ایجاد می‌شود و مولکول‌های DNA (پلازمید و ژن خارجی) در ژل شروع به حرکت می‌کنند.

نکته: چون بار DNA منفی است پس از طرف چاهک‌ها به سمت قطب مثبت حرکت می کنند.

۷- مولکول‌های DNA کوچک (ژن خارجی که دارای ژن انسولین است) زودتر از پلازمید (وکتور) از منافذ موجود در ژل عبور کرده و به قطب مثبت نزدیک‌تر می‌شود و از چاهک‌ها (و قطب منفی) دورتر قرار می‌گیرد.

نکته: چون ژن خارجی هم‌اندازه بود. در ژل (دور از چاهک‌ها و در نزدیک قطب مثبت) تشکیل یک نوار می‌دهند.

۸- مولکول‌های DNA بزرگ (پلازمید) چون بزرگ و سنگین‌اند پس سرعت حرکت آن‌ها از ژن خارجی کندتر بوده و در نزدیکی چاهک‌ها (دورتر از قطب مثبت و ژن خارجی) تشکیل یک نوار می‌دهند.

۹- با توجه به موارد ۷ و ۸، در **ژل ۲ نوار جدا از هم داریم که آن نواری که در نزدیکی قطب مثبت (دور از چاهک‌ها) می‌باشد مربوط به ژن خارجی و آن نواری که از قطب مثبت دورتر است مربوط به پلازمید می‌باشد.**

نکته: در هر نوار **مقدار بار** و **اندازه‌ی مولکول DNA** با یکدیگر برابر است.

تذکر: مقدار بار الکتریکی نوار نزدیک به چاهک‌ها بیش‌تر از نوار نزدیک به قطب مثبت است (زیرا اندازه‌ی آن‌ها بزرگ‌تر بوده و تعداد فسفات آن‌ها بیش‌تر است) ولی مواظب باشید **چگالی بار همه‌ی نوارها و DNA ها با یکدیگر برابر است.**

توجه: اگر فرق مقدار بار با چگالی بار نمی‌دانید لطفاً یک سری به فیزیک سال سوم بزنید!

ترکیب: هر چقدر مولکول DNA تعداد نوکلئوتیدهای آن بیش‌تر باشد، تعداد پیوند فسفودی استر، طول آن، مقدار بار آن و وزن مولکولی آن بیش‌تر نیز خواهد بود و سرعت حرکت آن در ژل کم‌تر خواهد بود.

نکته: بار پروتئین و نوکلئیک اسید **عامل حرکت** در ژل است. اما مواظب باشید عامل جدا کننده‌ی آن‌ها **انـدازه و وزن مولکـولی** آن‌هاست.

نکته: روش الکتروفورز علاوه بر **نوکلئیک اسیدها**، برای **پروتئین‌ها** نیز کاربرد دارد. **در این روش، پروتئین‌ها بر اساس انـدازه از یکـدیگر جدا می‌شوند.**

تذکر: پروتئین‌هایی که به درون چاهک (برای جداسازی از نظر اندازه) می‌ریزند از نظر بار همگی منفی هستند. یعنی نوع بار آن‌ها یکسان است.

سؤال: درستی یا نادرستی عبارت‌های زیر را تعیین کنید؟

الف) مولکول DNAای که به قطب منفی نزدیک‌تر است واجد تعداد بیش‌تر باز آلی است.

ب) نوع بار الکتریکی بر خلاف اندازه‌ی مولکول در تفکیک مولکول‌های DNA نقش دارد.

ج) پروتئین‌هایی که از منافذ ژل در حال عبوراند نمی‌توانند از نظر نوع بار با یکدیگر متفاوت باشند.

د) نوارهایی که به قطب مخالف بار الکتریکی مولکول نزدیک‌اند، دارای مولکول‌های بزرگ‌تر هستند.

هـ) مولکول DNAای که نوکلئوتید کم‌تری دارد نسبت به سایرین سریع‌تر به چاهک‌های ژل نزدیک می‌شود.

و) عامل اصلی تفاوت در سرعت حرکت مولکول‌ها در ژل، چگالی بار الکتریکی می‌باشد.

ز) بین تعداد پیوند فسفودی استر مولکول‌های DNA و میزان حرکت آن‌ها در ژل رابطه‌ی عکس وجود دارد.

پاسخ:

درست: الف- ج- ز

نادرست: ب- د- هـ - و

۶ بازی با ریاضی

سؤال ۱: با توجه به آن‌چه که درباره‌ی مراحل تولید انبوه ژن انسولین به روش مهندسی ژنتیک آموختـه‌ایـد مـوارد زیـر را محاسبه کنید.

الف) در مرحله‌ی برش DNA چند پیوند فسفودی استر و هیدروژنی شکسته می‌شود؟

ب) آنزیم ECORI چه توالی را شناسایی می‌کند؟ این توالی دارای چند بازپورینی می‌باشد؟ در این تـوالی چنـد پیونـد فسـفودی اسـتر و پیوند هیدروژنی وجود دارد؟

ج) تعداد فسفات و حلقه‌های آلی در جایگاه تشخیص ECORI را بنویسید؟

د) در طول سنتز یک DNA نوترکیب واجد ژن انسولین، چند پیوند فسفودی استر و هیدروژنی شکسته و تشکیل می‌شود؟

هـ) از مرحله‌ی اول تا مرحله‌ی آخر چند پیوند فسفودی استر و هیدروژنی شکسته شد و تشکیل شده و چندبار آنزیم‌های ECORI و لیگاز فعالیت می‌کنند؟

و) در مرحله‌ی استخراج ژن چند پیوند فسفودی است و هیدروژنی شکسته شده و به ازای هر مولکول DNA نوترکیب چند قطعه‌ی DNA ایجاد می‌شود؟

پاسخ

الف- در **DNA** *خطی به منظور جدا کردن ژن انسولین (حداقل) دو جایگاه تشخیص وجود دارد در پلازمید نیز یک جایگاه تشخیص . بنابراین در مجموع ۶ پیوند فسفودی استر و ۲۴ پیوند هیدروژنی شکسته می‌شود.*

تذکر: محاسبه‌های بالا در صورت حداقل بررسی شده است.

ب- آنزیم **ECORI** *توالی* $\begin{matrix} GAATTC \\ CTTAAG \end{matrix}$ *در* **DNA** *را شناسایی می‌کند. در این توالی ۶ باز پورینی* **(G,A)**، *۶ بار پیریمیدنی* **(T,C)**، *۱۰ پیوند فسفودی استر و ۱۴ پیوند هیدروژنی* $(C \equiv G, A = T)$ *وجود دارد.*

ج) در این جایگاه تعداد فسفات با تعداد نوکلئوتیدها برابر می‌باشد یعنی ۱۲ عدد. تعداد حلقه‌های آلی $\frac{5n}{2}$ است که می‌شود، ۳۰ عدد.

د-

پیوند فسفودی استر شکسته شده= ۶ عدد

پیوند فسفودی استر تشکیل شده= ۴ عدد

پیوند هیدروژنی شکسته شده= ۲۴ عدد

پیوند هیدروژنی تشکیل شده= ۱۶ عدد

هـ) کل پیوند فسفودی استر شکسته شده= ۱۰ عدد

کل پیوند فسفودی استر تشکیل شده=۴ عدد

کل پیوند هیدروژی شکسته شده=۴۰ عدد

کل پیوند هیدروژنی تشکیل یافته= ۱۶ عدد

تعداد فعالیت **ECORI**= ۵ بار

تعداد فعالیت لیگاز= ۲ بار

و-

پیوند فسفودی استر شکسته شده= ۴ عدد

پیوند هیدروژنی شکسته شده= ۱۶ عدد

نکته: به ازای هر مولکول DNA نوترکیب، دو جایگاه تشخیص ECORI وجود دارد و ۲ قطعه‌ی DNA (یکی پلازمید دیگری ژن خارجی) تولید می‌شود.

توجه: موارد الف- د- هـ در حالت حداقل محاسبه شده است.

سؤال ۲: موارد زیر را در یک DNA نوترکیب که دارای ژن انسولین است محاسبه کنید؟

الف) تعداد و انواع ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک؟

ب) تعداد جایگاه آغاز و پایان همانندسازی؟

ج) تعداد جایگاه تشخیص ECORI؟

د) اگر ۱۰۰ نوکلئوتید داشته باشد تعداد موارد زیر را محاسبه کنید؟

تعداد پورین‌ها، تعداد پیوند فسفودی استر، تعداد پیوند قند، فسفات، تعداد طبقه‌بازی ها، تعداد حلقه‌های آلی، تعداد فسفات.

پاسخ:

الف) در DNA نوترکیب دارای ژن انسولین یک عدد و یک نوع ژن مقاوم به آنتی بیوتیک (به اسم ژن مقاوم به تتراسایکلین) وجود دارد.

ب) در هر DNA حلقوی یک جایگاه آغاز همانند سازی و یک جایگاه پایان همانندسازی وجود دارد.

نکته: به ازای یک جایگاه آغاز همانندسازی **معمولاً** (نه همیشه) ۲ دوراهی همانندسازی ایجاد می‌شود.

ج) ۲ جایگاه تشخیص $ECORI\left(\begin{matrix}GAATTC\\CTTAAG\end{matrix}\right)$ وجود دارد که در دو طرف ژن انسولین قرار گرفته‌اند.

د) تعداد پورین $= \frac{N}{2} = 50$ تا تعداد پیوند فسفودی استر $= N = 100$ تا

تعداد پیوند قند- فسفات $= 2N = 200$ تا

تعداد حلقه های بازهای آلی $= \frac{3N}{2} = 150$ تا

تعداد حلقه های آلی $= \frac{5N}{2} = 250$ تا تعداد فسفات $= N = 100$ تا

تذکر: موارد بالا را برای DNA حلقوی حساب کردیم که ۱۰۰ نوکلئوتید داشت. می‌دانید برای محاسبه‌ی DNA خطی وضعیت فرق می‌کند.

سؤال ۳: می‌خواهیم به وسیله‌ی یک پلازمید که دارای ۱۰۰ نوکلئوتید است و یک ژن انسولین که از ۵۰ پیوند فسفوداستر تشکیل یافته DNA نوترکیب بسازیم سپس در طی مهندسی ژنتیک مقداری ژن انسولین تولید کنیم. حال با توجه به این توضیحات موارد زیر را محاسب کنید:

الف) تعداد جایگاه تشخیص آنزیم در ژن انسولین؟

ب) تعداد نوکلئوتیدها و پیوند فسفودی استر در DNA نوترکیب؟

ج) اگر DNA مذکور را وارد یک باکتری کنیم که هیچ پلازمیدی ندارد، پس از ۳ نسل تولید مثل موارد زیر را محاسبه کنید؟

۱- تعداد جایگاه آغاز و پایان همانندسازی در محیط کشت ۲- تعداد باکتری در محیط کشت

۳- تعداد DNA نوترکیب در محیط کشت. ۴- تعداد جایگاه تشخیص آنزیم ECORI

۵- تعداد نوار در ژل الکتروفورز

پاسخ:

الف) در ژن انسولین نباید جایگاه تشخیص آنزیم وجود داشته باشد.

ب) پلازمید ۱۰۰ نوکلئوتید دارد- ژن خارجی نیز دارای ۵۰ پیوند فسفودی استر و ۵۲ نوکلئوتید است. بنابراین DNA نوترکیب دارای ۱۵۲ نوکلئوتید و ۱۵۲ پیوند فسفودی استر است.

ج) اگر یک باکتری ۳ نسل همانندسازی کند تعداد آن در نسل سوم می شود 2^3 یعنی ۸ عدد.

حال بعد از ۳ نسل، در محیط کشت ۸ عدد باکتری وجود دارد.

در همه‌ی باکتری‌ها DNA اصلی وجود دارد. پس در محیط کشت ۸ عدد DNA اصلی وجود دارد.

حال تعداد DNAهای نوترکیب چند عدد است؟

تعداد پلازمیدها یا با تعداد باکتری‌ها برابر است یا تعدادش از باکتری‌ها (و DNA اصلی) بیش‌تر خواهد بود.

یادآوری: در هر DNA حلقوی یک جایگاه آغاز همانندسازی، یک جایگاه پایان همانندسازی و دو رشته‌ی پلی نوکلئوتیدی وجود دارد.

حال برویم به پاسخ سؤال برسیم:

۱- تعداد جایگاه آغاز همانندسازی = تعداد جایگاه پایان همانند سازی= تعداد DNA حلقوی

تعداد DNA حلقوی در محیط کشت= تعداد DNA اصلی (۸ عدد)+ تعداد DNA نوترکیب (۸ عدد یا بیش‌تر)

بنابراین تعداد جایگاه آغاز همانندسازی و پایان همانندسازی ۱۶ عدد و یا بیش‌تر است.

۲- تعداد باکتری $= 2^n = 2^3 = 8$ عدد (n = تعداد نسل)

۳- حداقل ۸ عدد و حداکثر بیش تر از۸ عدد

۴- هر DNA نوترکیب ۲ جایگاه برای ECORI دارد پس حداقل ۱۶ عدد و حداکثر بیش تر از ۱۶ عدد.

۵- بعد از برش DNA نوترکیب، دو DNA تولید می‌شود یکی ژن خارجی (کوچک) و دیگری پلازمید (بزرگ). پس در ژل ۲ نوار تشکیل می‌شود. یکی که به قطب مثبت نزدیک است دارای ژن خارجی (انسولین) و آن‌که به چاهک‌ها نزدیک‌تراست دارای پلازمید می‌باشد.

مهندسی ژنتیک در پزشکی

۱ تولید دارو

بسیاری از بیماری‌های ژنی به علت عدم توانایی بدن در ساختن **یک نوع پروتئین خاص** است.

ترکیب: پروتئین‌ها در ساختار سلول‌ها و بدن جانداران شرکت دارند و در انجام **همه‌ی** کارهای درون سلول‌ها نقش دارند.

یادآوری: به منظور ساختن پروتئین‌ها از روی ژن رونویسی صورت می‌گیرد و سپس mRNAهای حاصل به پروتئین ترجمه می‌شوند.

۲- موارد زیر بیماری‌هایی هستند که به دلیل ساخته نشدن پروتئین ایجاد می‌شوند:

a- در افراد مبتلا به **آکلاپتونوریا** آنزیم تجزیه کننده ی هموجنتسیک اسید ساخته نمی‌شود.

b- افرادی که **بیماری فنیل کتونوریا** دارند، آنزیمی را که **آمینواسید فنیل آلانین را به آمینواسید تیروزین** تبدیل می‌کنـد، ندارند.

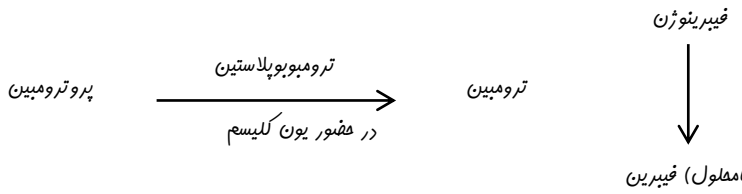
c- در افراد مبتلا به **دیابت نوع یک** به علت حمله‌ی دستگاه ایمنی به جز ایرلانگرهانس در پانکراس انسولین تولید نمی‌شـود یـا مقدار تولید شدیداً کاهش می‌یابد.

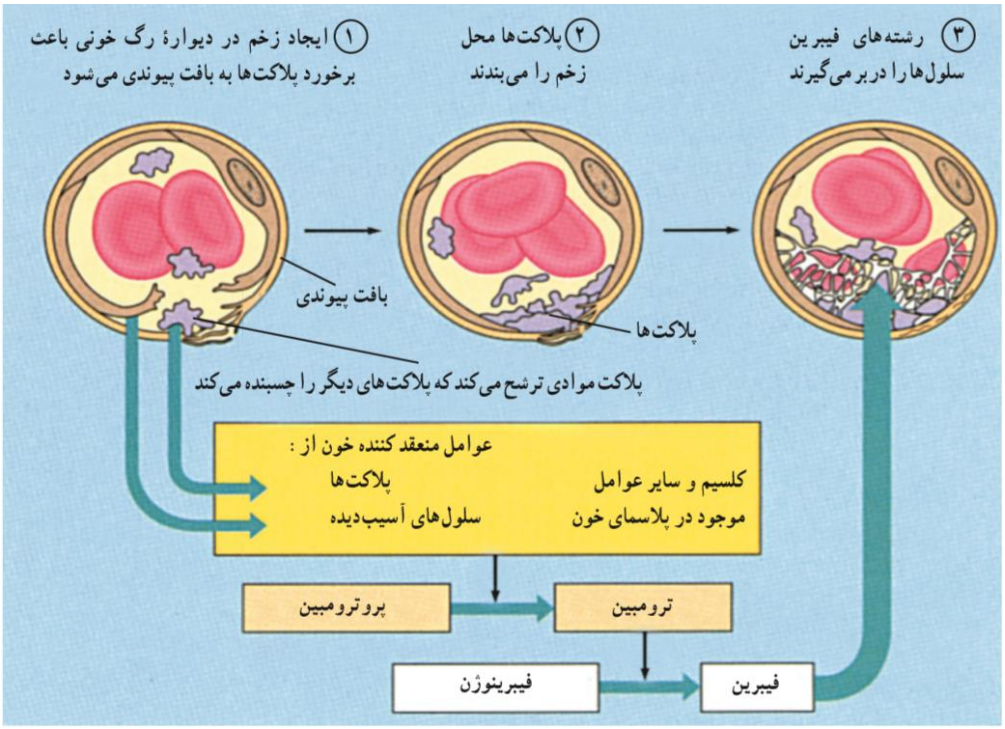
d- در افراد مبتلا به **هموفیلی** فاکتور انعقادیVIII (۸) که از جنس پروتئین است تولید نمی‌شود. خون افراد مبتلا به هموفیلی، در موقع لزوم منعقد نمی‌شود. بنابراین چنین افرادی در خطر خون‌ریزی بیش از حد قرار دارند.

ترکیب: بیماری هموفیلی یک بیماری ارثی و وابسته به جنس (X) است. بنابراین آلل مربوط به این بیماری بر روی کروموزوم X قرار دارد.

نکته: **پسران** آلل این بیماری را **فقط** از مادر و **دخترها** از پدر و مادر دریافت می‌کنند.

ترکیب: فرآیند انعقاد خون به صورت زیر است:





نکته: در افراد مبتلا به هموفیلی پروترومبین به ترومبین تبدیل نمی‌شود و در نهایت فیبرین که برای انعقاد خون لازم است تولید نمی‌گردد.

e- در **بعضی** از افراد مواد ضد انعقاد خون تولید نمی‌شود. این مواد برای جلوگیری از ایجاد لخته‌ی خون به کار می‌رود.

ترکیب: هپارین نوعی ماده‌ی ضد انعقاد خون است که توسط **بازوفیل‌ها** و **ماستوسیت‌ها** تولید می‌شود.

امروزه فاکتور انعقادی شماره‌ی ۸، انسولین، مواد ضد انعقاد خون، اریتروپویتین و اینترفرون‌ها را، **با به‌کار بردن روش‌های مهندسی ژنتیک در باکتری‌ها تولید می‌کنند.**

ترکیب: اریتروپویتین نوعی هورمون است که از **کبه و کبد** به جریان خون ترشح می‌شود. این هورمون با اثر بر سلول‌های بنیادی مغز قرمز استخوان سبب تولید گلبول قرمز می‌شوند و هماتوکریت را افزایش می‌دهند.

ترکیب: اینترفرون‌ها پروتئین‌های ضد ویروسی هستند که از سلول های آلوده به ویروس ترشح می‌شوند و سبب مقاومت کوتاه مدت **سلول‌های سالم** در برابر **بسیاری** از ویروس‌ها می‌شوند. این پروتئین‌ها از **همانندسازی ویروس** در سلول‌های **سالم** جلوگیری می‌کند.

۴-**تا چندی پیش بیماران هموفیل** فاکتوری را که از خون‌های اهدایی استخراج می‌شود، دریافت می‌کردند. متأسفانه **بعضی** از خون‌های اهدایی به ویروس HIV یا ویروس هپاتیت B آلوده بودند.

۲ تولید واکسن نوترکیب

۱- **واکسن** شکل کشته شده یا ضعیف شده‌ی یک ماده ی عفونت زا (مثل باکتری، ویروس و ...) و یا جزئی از میکروب (مثلاً آنتی‌ژن‌های آن) و در **برخی** موارد سم خنثی شده‌ی میکروب است که تولید بیماری نمی‌کند اما **سبب برانگیختن پاسخ ایمنی می‌شود.** با استفاده از واکسن دستگاه ایمنی تحریک می‌شود و در مقابل با میکروب، **سلول خاطره** را به وجود می‌آورد. به این ترتیب پاسخ ایمنی که در برابر واکسن ایجاد می‌شود، از ابتلا به بیماری جلوگیری می‌کند.

نکته: ایمنی حاصل از واکسن **فعال بوده و در بیش‌تر موارد دائمی** است.

۲- **بسیاری** از بیماری‌های ویروسی، مانند **آبله** و **فلج اطفال** با داروهای موجود درمان نمی‌شوند. می‌توان با این ویروس‌ها از طریق پیش‌گیری، یعنی به کار بردن واکسن، مبارزه کرد.

۳- انواع واکسن به صورت زیر است:

a) واکسن حاوی میکروب ضعیف شده یا اکشته شده .

نکته: یک خطا در کشتن و ضعیف کردن یک بیماری‌زا منجر به انتقال بیماری به افرادی می‌شود که برای جلوگیری از آن اقدام نموده‌اند.

b) واکسن حاوی آنتی‌ژن یا سم خنثی شده‌ی میکروب

نکته: اگر سم میکروب به خوبی خنثی نشود می‌تواند و در افرادی که این واکسن را تزریق کرده‌اند منجر به بیماری می‌شود.

c) واکسن حاوی ویروس یا باکتری نوترکیب

واکسن‌هایی که به روش مهندسی ژنتیک ساخته می‌شوند، امکان ابتلا به بیماری وجود ندارد. دلیل این اتفاق این است که در این روش باکتری یا ویروس تغییر یافته (که برای انسان بیماری‌زا نیست) را به بدن تزریق می‌کنند.

باکتری یا ویروس تغییر یافته به روش مهندسی ژنتیک در سطح خود آنتی ژن‌های عامل بیماری‌زا را دارد. بنابراین وقتی این واکسن به انسان تزریق شود، دستگاه ایمنی آنتی‌ژن‌های مربوط به عامل بیماری‌زا را شناسایی کرده و در برابر آن **سلول خاطره** با عامل بیماری‌زا مبارزه کرده و مانع ایجاد بیماری می‌شود.

نکته: آنتی ژن‌های عامل بیماری‌زا نمی‌تواند سبب ایجاد بیماری شود. بنابراین ویروس یا باکتری تغییر یافته (که دارای آنتی‌ژن‌های عامل بیماری‌زا است) نمی‌تواند سبب بیماری شود.

۴- مراحل تولید واکسن هر پس تناسلی از طریق مهندسی ژنتیک به صورت زیر است:

a) DNA ویروس هرپس را خارج می کنیم.

b) ژن رمزکننده‌ی پروتئین‌های سطحی هرپس را توسط نوع خاصی از آنزیم محدود کننده از DNA جدا می‌کنیم.

نکته: با اثر آنزیم محدود کننده بر DNA هرپس، **حداقل ۴ انتهای چسبنده** تولید می‌شود.

c) DNA ویروس آبله‌ی گاوی را استخراج می‌کنیم و توسط همان آنزیم محدود کننده برش می‌دهیم.

نکته: DNA ویروس آبله‌ی گاوی به عنوان **وکتور** استفاده می‌شود.

نکته: در **DNA ویروس گاوی فقط** یک جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده وجود دارد.

d) DNA ویروس آبله‌ی گاوی و ژن رمزکننده‌ی پروتئین‌های سطحی هرپس از طریق انتهای چسبنده‌ی خود به هم متصل می‌شوند.

نکته: این اتصال توسط پیوند هیدروژنی صورت می‌گیرد نه پیوند فسفودی استر.

e) در مرحله‌ی بعد با استفاده از آنزیم لیگاز بین DNA آبله‌ی گاو و ژن پروتئین سطحی هرپس را پیوند فسفودی استر تشکیل می دهیم تا اتصال بین آن ها محکم شود.

f) در مرحله‌ی بعد ویروس آبله‌ی گاوی که دارای DNA نوترکیب است در محیط کشت که حاوی سلول‌های گاو است قرار می‌دهیم.

g) ویروس آبله‌گاوی تغییر یافته در محیط کشت با استفاده از آنزیم‌های یوکاریوتی تکثیر یافته و پروتئین‌های سطحی هرپس را تولید می‌کند. این پروتئین‌های سطحی در سطح پوشش آبله‌ی گاوی نمایان می‌شوند.

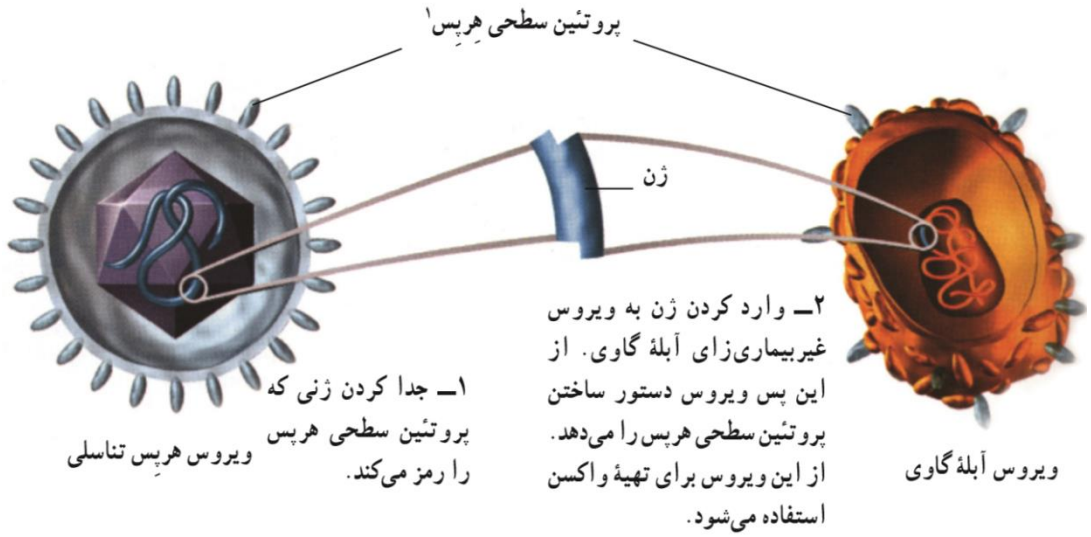
ترکیب: ویروس‌ها آنزیم‌های متابولیسمی، DNA پلی‌مراز ، RNA پلی مراز، ریبوزوم و ... ندارند. بنابراین DNA، کپسید، پوشش و پروتئین‌های سطحی آن‌ها توسط آنزیم‌های سلول میزبان ساخته می‌شود.

تذکر: ویروس‌ها توانایی سنتز پروتئین ندارند پس آن‌ها خودشان (به‌تنهایی) نمی‌توانند آنتی‌ژن، ژنوم، پروتئین ویروسی و پوشش را بسازند.

h) ویروس آبله‌ی گاوی تغییر یافته که در سطح خود پروتئین‌های سطحی هرپس را دارد، میگن **واکسن نوترکیب هرپس تناسلی**.

i) در مرحله‌ی بعد آبله‌ی گاوی دارای پروتئین سطحی هرپس را به انسان تزریق می‌کنیم.

j) لنفوسیت‌ها پروتئین‌های سطحی هرپس را شناسایی کرده و سپس رشد می‌کنند و تقسیم می‌شوند و سلول‌های B خاطره و پلاسموسیت ایجاد می‌شود.



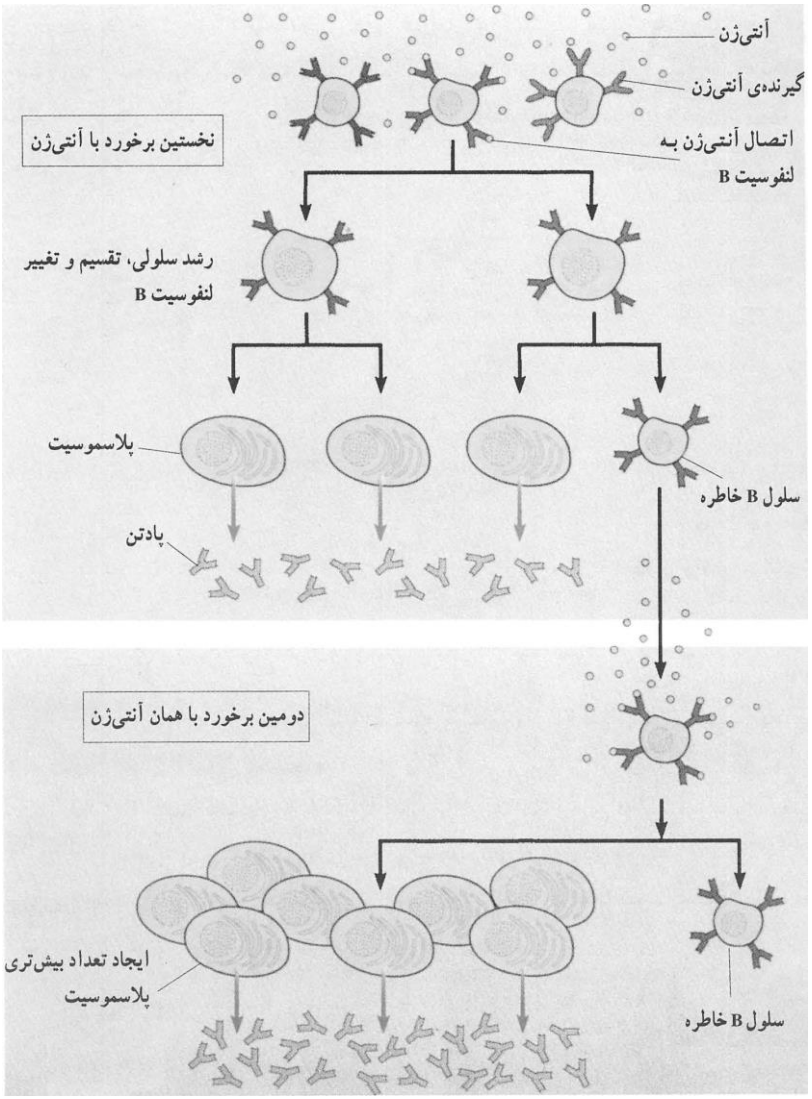
ترکیب: پلاسموسیت‌ها پادتن ترشح کرده و ویروس آبله‌ی گاوی تغییر یافته را خنثی می‌کنند و مقدار فاگوسیتوز توسط ذره‌خوارها افزایش می‌یابد.

ترکیب: سلول‌های B خاطره به حالت آماده باش در بدن به گردش در می‌آیند. و اگر ویروس هرپس وارد بدن شد، سلول‌های خاطره آن را شناسایی کرده و ...

نکته: ویروس آبله‌ی گاوی برای انسان بیماری‌زا نیست و نمی‌تواند سلول‌های انسان را آلوده کند. از طرف دیگر همه‌ی اجزای آن توسط DNA پلی مراز، RNA پلی مراز و ریبوزوم سلول‌های یوکاریوتی در محیط کشت ساخته شده است.

نکته: در طی فرایند تولید واکسن نوترکیب ژن رمزکننده‌ی آنتی‌ژن (نه خود انتی‌ژن یا پروتئین سطحی) به وکتور انتقال می‌یابد.

نکته: در طی فرایند سنتز واکسن نوترکیب وجود ژن پروتئین سطحی عامل بیماری‌زا، وکتور غیر بیماری‌زا، نوع خاصی از آنزیم محدود کننده، آنزیم لیگاز، آنزیم‌های رونویسی کننده و ریبوزوم ضروری است.



۵- چند تا مطلب درباره‌ی ویروس هرپس تناسلی و آبله‌ی گاوی:

a) کپسید ویروس هرپس تناسلی بر خلاف آبله‌ی گاوی **چندوجهی** است.

ترکیب: کپسید از جنس **پروتئین** بوده و در همه‌ی ویروس‌ها وجود دارد.

b) در خارج کپسید ویروس هرپس و آبله‌گاوی، یک **پوشش** (از جنس غشاء) وجود دارد.

نکته: پروتئین‌های سطحی هرپس و آبله‌گاوی در سطح پوشش آن‌ها قرار گرفته است.

c) **هرپس کروی شکل و ویروس آبله‌ی گاوی بیضی شکل** می‌باشد.

d) ویروس هرپس تناسلی، انسان و ویروس آبله‌ی گاوی، گاو را آلوده و بیمار می‌کند.

نکته: ویروس آبله‌ی گاوی برای انسان بیماری‌زا نیست و نمی‌تواند سلول‌های انسان را آلوده کند و در انسان تکثیر یابد.

۶- چندتا مطلب پایانی

a) واکسن ضد هپاتیت B امروزه توسط مهندسی ژنتیک ساخته شده است. ویروس هپاتیت B باعث **التهاب کبد** می‌شود **ممکن است** کشنده باشد.

ترکیب: هپاتیت B می‌تواند باعث ایجاد **یرقان** شود. این بیماری می‌تواند در کار کبد اختلال ایجاد کند.

ترکیب: کبد در سم‌زدایی، تولید صفرا و تولید هورمون اریتروپویتین فعالیت می‌کند.

نکته: امروزه واکسن‌های هپاتیت B، فلج اطفال و هرپس تناسلی توسط مهندسی ژنتیک ساخته شده است.

b) تلاش دیگری که امروزه صورت می‌گیرد تولید واکسنی است که مردم را در برابر بیماری مالاریا محافظت کند.

نکته: مالاریا بر اثر آلودگی به یک **تک سلولی** از گروه **آغازیان** (شاخه‌ی هاگ‌داران) به وجود می‌آید و **معمولاً** در برابر آن حفاظت مؤثری وجود ندارد.

ترکیب: هاگداران، آغازیان غیر متحرک، انگل و تک سلولی هستند. عامل مالاریا توسط **پشه** از میزبانی دیگر انتقال می‌یابد.

c) هنوز در برابر ویروس HIV واکسنی ساخته نشده است. دلیلش این است که **در اثر وقوع جهش عمدی، پروتئین‌های سطحی (آنتی‌ژن) آن به طور مداوم در حال تغییر است.**

۷- مقایسه‌ی واکسن و سرم در یک نگاه

ویژگی / انواع ایمنی	*سرعت بهبودی*	*مدت پایداری*	*سلول خاطره و پلاسموسیت*	*فعالیت فاگوسیتوزها*
ایمنی فعال	کم	زیاد (در **بیشتر** موارد **دائمی** است)	ایجاد می‌شود	افزایش می‌یابد
ایمنی غیرفعال	زیاد	کم (**همیشه موقتی** است)	ایجاد نمی‌شود	افزایش می‌یابد

سؤال: درستی یا نادرستی عبارت‌های زیر را تعیین کنید:

الف) به منظور مبارزه با ویروس می‌توان از طریق مهندسی ژنتیک اینترفرون تولید کرد.

ب) در طی تولید واکسن نوترکیب، آنتی‌ژن بیماری‌زا را به ویروس غیر بیماری‌زا انتقال می‌یابد.

ج) در طی تولید واکسن هرپس از طریق مهندسی ژنتیک، ویروس هرپس، وکتور می‌باشد.

د) پس از تزریق ویروس آبله‌ی گاوی تغییر یافته به انسان، فعالیت ذره‌خوارها افزایش می‌یابد.

هـ) ایمنی حاصل از همه‌ی واکسن‌ها فعال بوده و همواره دائمی می‌باشد.

و) با استفاده از گروهی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان با عامل آبله و فلج اطفال مبارزه کرد.

ز) در افراد مبتلا به هپاتیت B احتمال اختلال در جذب ویتامین K در روده رو به افزایش است.

پاسخ:

درست: الف- د- ز

نادرست: ب- ج- هـ- و

ژن‌درمانی

۱- بسیاری از ناهنجاری‌های ژنتیک زمانی ایجاد می‌شوند که فرد نسخه‌ی فعال یک ژن خاص را نداشته باشد.

تعریف ژن درمانی: ژن درمانی یعنی قرار دادن یک نسخه‌ی سالم از یک ژن، درون سلول های فردی که دارای نسخه‌ای ناقص از همان ژن است.

۲- اولین تلاش‌ها برای ژن درمانی در دختر بچه‌ای که **مبتلا به نوعی ناهنجاری دستگاه ایمنی** بود صورت گرفت. این ناهنجاری را یک ژن جهش یافته ایجاد می‌کند. **این ژن جهش یافته نمی‌تواند یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی را بسازد.**

۳- مراحل ژن درمانی دختر بچه‌ای که در مورد ۲ گفتم به صورت زیر است:

a) خارج کردن گروهی از سلول‌های بنیادی مغز استخوان.

تذکر: پزشکان **تعدادی** از سلول‌های بنیادی استخوان را خارج کردند نه همه‌ی آن‌ها.

ترکیب: سلول‌های بنیادی در مغز قرمز استخوان قرار دارند. در دو سر **استخوان‌های دراز** و بخش میانی **استخوان‌های پهن** و **کوتاه**، مغز قرمز و سلول بنیادی وجود دارد. **این مکان‌ها از جنس بافت استخوانی و از نوع اسفنجی هستند.**

b) در مرحله‌ی بعد با انجام یک سری از کارها *(که به شما ربطی نداردﷺ)* ژن سالم (که در دختر بچه معیوب بود) را به درون سلول‌های بنیادیِ دختر مذکور وارد کردند.

نکته: در این سلول‌های بنیادی تغییر یافته هم آلل معیوب (۲ تا) و هم آلل سالم (یکی) وجود دارد.

c) سپس پزشکان گرامی سلول‌های بنیادی تغییر یافته را به مغز قرمز استخوان دختر بچه برگرداندند.

d) سلول‌های مذکور چون دارای آلل سالم هستند، **بلافاصله** شروع به ساختن آنزیم کردند.

تذکر: آنزیم مذکور فقط توسط سلول‌های تغییر یافته (ژن درمانی شده!) و سلول‌های حاصل از تقسیم آن‌ها ساخته می‌شد نه همه‌ی سلول‌های بنیادی فرد.

نکته: چون سلول‌های بنیادی مغز استخوان دارای قدرت تقسیم بالایی هستند، نسل‌های بعدی این سلول‌های حاصل از مهندسی ژنتیک به ساختن این آنزیم ادامه می‌دهند.

تذکر: در طی ژن درمانی جانور تراژنی ایجاد نمی‌شود.

۴- چندتا مطلب درباره‌ی ژن درمانی که در مورد ۳ گفتم:

a) در طی ژن درمانی (بیماری‌های مغلوب!) آلل‌های معیوب (۲ تا در هر هسته‌ی 2n انسان) را از سلول‌ها خارج نمی‌کنند. پس در سلول تغییر یافته هم آلل معیوب (۲تا) و هم آلل سالم (یکی) وجود دارد.

مثال: فرض بگیرید فردی بیماری x دارد و ژنوتیپ آن aa است. پس از ژن درمانی علاوه بر آلل‌های a، در بعضی از سلول‌هایش آلل A (ژن سالم) را خواهد داشت. در این حالت از روی ژن A رونویسی شده و فرد درمان می‌شود.

b) در فرد ژن درمانی شده هم سلول تغییر یافته وجود دارد هم سلول تغییر نیافته . **این‌جوری نیست که همه‌ی سلول‌های فرد تغییر یابد و دارای ژن سالم باشد.**

c) چون ژن درمانی در گروهی از سلول‌های بنیادی صورت گرفته است پس **سلول‌های زاینده** (سلول تولید کننده‌ی گامت) دارای آلل معیوب بوده و ژن سالم را ندارند. بنابراین این فرد می‌تواند ژن بیماری را به نسل بعد منتقل کند.

نکته: برای این‌که در گامت‌های فرد مذکور آلل سالم وجود داشته باشد باید همه‌ی سلول های زاینده‌ی فرد را ژن درمانی کرد. اما این کار نشدنی است. پس بهتر است بعد از لقاح ژن درمانی بر روی سلول تخم صورت گیرد.

نکته: اگر ژن درمانی بر روی سلول تخم صورت گیرد، همه‌ی سلول‌های بدن هسته‌دار (فرد ایجاد شده از رشد تخم ژن درمانی شده) آن ژن سالم را خواهند داشت.

d) چون دختر مذکور به طور مادرزادی دچار اختلال در دستگاه ایمنی بوده می‌توان گفت فرد مذکور (فردی که برای اولین بار تحت ژن درمانی قرار گرفته است) دچار **نقص ایمنی ذاتی** بوده است.

ترکیب: ۲ نوع نقص ایمنی وجود دارد: یکی ذاتی (نداشتن تیموس به صورت مادرزادی و ...) یکی دیگر **اکتسابی** (ابتلا به HIV)

۵- **شرایط لازم برای انجام ژن درمانی:**

a) سلولی ژن درمانی می‌شود که **قدرت تقسیم بالایی داشته باشد.**

نکته: میون (سلول ماهیچه‌ی اسکلتی) و نورون، میتوز و سیتوکینز ندارند. پس نمی‌توان از آن‌ها برای ژن درمانی استفاده کرد.

b) **علت اصلی بیماری نقص تک ژنی باشد نه نقص چند ژنی**

c) بیماری از نوع **مغلوب** باشد.

نکته: اگر بیماری از نوع غالب باشد حتماً باید آلل معیوب را از سلول خارج کرد. (که به این سادگی‌ها نیست!)، اگر نقص ژنی از نوع غالب باشد (یعنی آلل معیوب بر آلل سالم غالب باشد)، دیگر در حضور آلل سالم هم از روی ژن سالم رونویسی صورت نمی‌گیرد و فرد بیمار خواهد بود.

مثال: فرض بگیرد آلل A بر a غالب باشد. آلل A آلل بیماری و آلل a، آلل سالم است. در این صورت فرد aa بیمار و فرد Aa سالم و یا AA نیز بیمار خواهد بود. پس اگر بخواهیم این فرد را ژن درمانی کنیم باید حتماً آلل A را از سلول (که قدرت تقسیم بالایی دارد) خارج کنیم. تا آلل a روشن شود.

۶- **به طور کلی موارد زیر را می‌توان ژن درمانی کرد:**

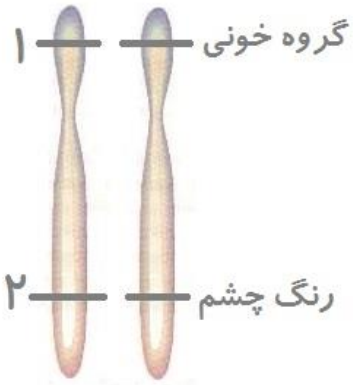
a) بیماری‌های خودایمنی را می‌توان ژن درمانی کرد. در خود ایمنی دستگاه ایمنی به سلول‌های خودی حمله می‌کند. حال می‌توانیم گروهی از سلول‌های بنیادی را ژن درمانی کنیم که دیگر سلول‌های حاصل از تقسیم آن‌ها (که به گلبول‌سفید تبدیل می‌شوند) به سلول های خودی حمله نکنند.

b) در تالاسمی و کم‌خونی داسی شکل ژن هموگلوبین دچار جهش شده است. حال ما با ژن درمانی سلول‌های بنیادیِ مولد گلبول‌های قرمز، می توانیم این افراد را درمان کنیم.

ژنوم و HGP

۱ ژنوم

۱- **چندتا مطلب زیر را باید بدانیم:**



a- کروموزوم‌های همتا از نظر **اندازه، شکل، محتوی ژنتیکی، جایگاه ژن‌ها** و **توالی قرار گیری ژن‌ها**، مشابه هستند.

b- محل قرارگیری ژن و آلل‌ها در کروموزوم‌های همتا یکسان و مشابه است.

c- **اگر کروموزوم‌های همتا خالص باشند،** در آن‌ها علاوه بر اندازه، شکل و محتوی ژنتیکی، **توالی نوکلئوتیدها** نیز یکسان می‌باشد.

تذکر: در کروموزوم‌های همتا که هتروزیگوس‌اند، توالی نوکلئوتیدی متفاوت می‌باشد.

d- اگر در یک کروموزوم جایگاه شماره‌ی ۱ دارای ژن گروه خونی و جایگاه ۲ دارای ژن رنگ چشم باشد. حتماً در کروموزوم همتای آن نیز این جایگاه‌ها به‌ترتیب محل قرارگیری ژن‌های گروه خونی و رنگ چشم می‌باشد.

e- در باکتری همه‌ی پلازمیدهای حاصل از یک همانندسازی، همتا بوده و در آن‌ها اندازه، شکل، محتوی ژنتیکی، جایگاه ژن‌ها و توالی نوکلئوتیدها و ژن‌ها مشابه و یکسان می‌باشد.

۲- به کل **محتوای** DNAی یک جاندار میگن **ژنوم**.

نکته: منظور از **ژنوم**، در یوکاریوت‌ها، DNAی هسته‌ای (DNA خطی) و DNAهای سیتوپلاسمی (میتوکندری و کلروپلاست) می‌باشد.

نکته: ژنوم باکتری شامل یک **DNA حلقوی اصلی و کروموزوم کمکی** (از هر نوع فقط یکی) است.

۳- مواظب باشید **ژنوم یعنی کل محتوای DNA یک جاندار نه کل کروموزم و DNAی یک جاندار**. بنابراین **برای محاسبه‌ی ژنوم باید از کروموزوم‌های همتا فقط یکی از آن‌ها را حساب کرد.** برای مثال در من (می‌دانید که محمد شاکری هستم! این یعنی پسر هستم) ۴۶ کروموزوم هسته‌ای وجود دارد. از این ۴۶ تا، ۴۴ عدد از کروموزوم‌ها غیر جنسی (اتوزوم) و دو کروموزوم دیگر Y,X هستند. حال از بین ۲ کروموزوم همتا فقط یکی را حساب می‌کنیم. بنابراین، ژنوم هسته‌ای من (کل محتوی DNAی هسته‌ای من) می‌شود. ۲۲ کروموزوم غیرجنسی (اتوزوم بوده و همگی نسبت به یکدیگر غیر همتا هستند) و دو کروموزوم جنسی Y, X.

۴- با توجه به مطالبی که از سال‌های گذشته تا کنون آموخته‌اید، تعداد کروموزوم‌ها در کاریوتیپ، ژنوم هسته‌ای و ژنوم جاندار به صورت زیر است:

	مرد	زن	ملخ نر	ملخ ماده	مرغ	فروس
کاریوتیپ	44+XY=46	44+XX=46	22+XO=23	22+XX=24	76+ZW=78	76+ZZ=78
ژنوم هسته‌ای	22+XX=24	22+X=23	11+X=12	11+X=12	38+ZW=40	38+Z=39
ژنوم جاندار	۲۴+ ژنوم میتوکندری	۲۳+ ژنوم میتوکندری	۱۲+ ژنوم میتوکندری	۱۲+ ژنوم میتوکندری	۴۰+ ژنوم میتوکندری	۳۹+ ژنوم میتوکندری

۵- با توجه به جدول فوق و چند تا چیز دیگر باید مطالب زیر را بدانید:

a- در گیاهان کروموزوم جنسی وجود ندارد پس ژنوم آن شامل نصف کروموزوم‌های هسته + ژنوم میتوکندری + ژنوم کلروپلاست است. **بنابراین سرخس مار زبان که ۱۲۶۲ کروموزوم دارد ژنوم آن به صورت زیر است:**

$$\frac{1262}{2}$$ + ژنوم کلروپلاست+ ژنوم میتوکندری

b- **ژنوم هسته‌ای ملخ نر با ملخ ماده برابر است.** ملخ جزء حشرات بوده و اسکلت خارجی کیتینی، چشم مرکب، مفصل گوی و کاسه، پای بند بند، گردش خون باز (قلب منفذدار، همولنف)، تنفس نایی، لوله‌ی گوارش، سلول‌های مشابه فاگوسیت، لیزوزیم، لیزوزوم، لقاح داخلی و ... دارند. در ضمن ماده‌ی دفعی نیتروژن دار آن ها اوریک اسید است.

c- **زنبور نر عسل حشره‌ای هاپلوئید است.** بنابراین **در این جانور تعداد کروموزوم هسته‌ای با تعداد ژنوم هسته‌ای برابر است.** زنبور نر چون حشره است ویژگی‌هایی که درباره‌ی ملخ (در ۲) گفتم درباره‌ی زنبور هم صادق است. زنبور توانایی دیدن رنگ و پرتو فرابنفش را دارد.

ترکیب: زنبور عسل نرچون هاپلوئید (n) است پس توانایی میوز ندارد بنابراین طی میتوز اسپرم (گامت نر) تولید می‌کند.

سؤال: تعداد کروموزم هسته‌ای، کاریوتیپ، ژنوم هسته‌ای و ژنوم سلولی در گیاه گل مغربی محاسبه کنید:

پاسخ

۲ نوع گیاه گل مغزی وجود دارد: یکی 2n=14 و دیگری 4n=28

نوع گل مغربی	کروموزوم هسته	کاریوتیپ	ژنوم هسته‌ای	ژنوم سلولی (یا جاندار)
2n=14	14	14	7	۷+ ژنوم میتوکندری+ ژنوم کلروپلاست
4n=28	28	28	7	۷+ ژنوم میتوکندری+ ژنوم کلروپلاست

نکته: تعداد کروموزوم هسته‌ای معادل تعداد کروموزوم در کاریوتیپ است.

d- ژنوم جانداران در یک نگاه :

باکتری: DNA اصلی + DNA کمکی (از هر نوع فقط یکی)

جانوران: (به جز زنبور نر) نصف کروموزوم اتوزوم + کروموزوم‌های جنسی (از هر نوع فقط یکی) + DNA میتوکندری

گیاهان: نصف کروموزوم هسته + DNA کلروپلاست + DNA میتوکندری

قارچ‌ها، آغازیان هتروتروف: ژنوم هسته‌ای + ژنوم میتوکندری

جلبک‌ها و آغازیان فتوسنتز کننده: ژنوم هسته‌ای + ژنوم میتوکندری + ژنوم کلروپلاست

یادآوری: از موارد زیر برای تهیه ژنوم نمی‌شود استفاده کرد:

a) گلبول‌های قرمز (در انسان اندامک ندارند)
b) پلاکت‌ها
c) سلول‌های شاخی سطح پوست (مرده‌اند)
d) غشایی پایه (پروتئین رشته‌ای + پلی ساکارید چسبناک)
e) غلاف میلین (پروتئین+ فسفولیپید + کلسترول)
f) سلول‌های غربالی در گیاهان (اندامک و هسته ندارند.)
g) عناصر آوندی، تراکئید، فیبر و اسکلروئید در گیاهان (مرده‌اند.)

۲ HGP

۱- HGP یا Human Genome project **یعنی پروژه‌ی ژنوم انسان** (نه جاندار دیگر)

نکته: تکنولوژی ژن توانایی‌های زیادی برای مقابله علیه بیماری‌ها را دارد. **یکی از مهم‌ترین** شواهدی که کارایی مهندسی ژنتیک را تأیید می‌کند، پروژه‌ی ژنوم انسان است.

۲- اهداف پروژه‌ی ژنوم انسان (HGP) موارد زیر است:

a) مشخص کردن ژن‌های انسان
b) تعیین نقشه‌ی جایگاه هر ژن روی هر کروموزوم انسان.
c) تعیین توالی نوکلئوتیدهای ژنوم انسان.

نکته: منظور از توالی نوکلئوتیدها، نوع و ترتیب قرار گرفتن نوکلئوتیدها در مولکول‌های DNA است.

نکته: یکی از اهداف HGP تعیین توالی نوکلئوتیدهای هر ژن و سایر بخش‌های DNAی انسانی است.

تذکر: هدف HGP فقط تعیین توالی نوکلئوتیدی و جایگاه ژن در کروموزوم هسته‌ای نیست بلکه DNA سیتوپلاسمی (میتوکندری) نیز است.

۳- دانشمندان امیدوارند که دانش به دست آمده از پروژه‌ی ژنوم انسان بتواند به تشخیص، معالجه و درمان حدود **۴۰۰۰** ناهنجاری ژنتیک انسان کمک کند. دانشمندان تاکنون ژن‌های دخیل در **بسیاری** از ناهنجاری ژنتیک، از جمله **سیستیک فیبروزیز**(اتوزوم مغلوب)، **دیستروفی عضلانی دوشن** و **سرطان** را کشف کرده‌اند.

۴- پروژه‌ی ژنوم انسن (HGP) جایگاه **بسیاری** از ژن‌ها را مشخص کرده است.

نکته: بیش از ۴۵۰ ژن و **۲۰۰** ناهنجاری ژنتیکی روی کروموزوم X وجود دارند.

۵- با توجه به شکل روبرو ژن‌های تحلیل عضلانی دوشن، رنگ‌دانه‌ای شدن شبکیه‌ی چشم، سیناپیس ۱، کام شکاف دار، وابسته به X، پذیرنده‌ی آنژیونانسین ۲، نشانگان زالی- ناشنوایی و پروتئین ریبوزومی L۱۰، بر روی کروموزوم X قرار دارد. (شکل ۶-۲)

نکته: ژن‌های زیرهمگی مربوط به بیماری بوده و روی کروموزوم X قرار دارند (یعنی وابسته به جنس‌اند):

a) ژن کورنگی
b) هموفیلی
c) تحلیل عضلانی دوشن
d) کام شکاف دار وابسته به X
e) نشانگان زالی- ناشنوایی

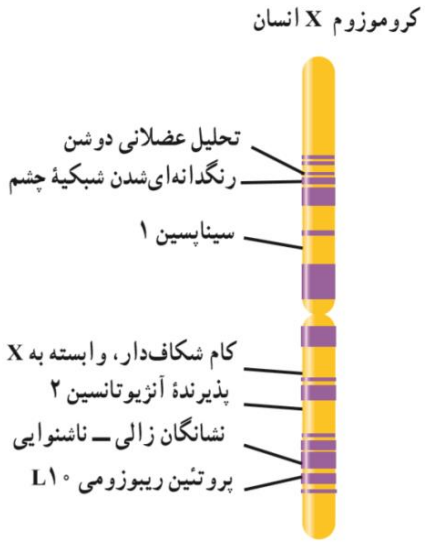
نکته: ژن‌های زیر همگی مربوط به پروتئین‌های طبیعی انسان‌اند و روی کروموزوم X قرار دارند:

a) سیناپس ۱
b) پذیرنده‌ی آنژیوتانسین ۲
c) پروتئین ریبوزومی L۱۰

ترکیب: پروتئین‌های مذکور (a) تا (c) توسط **RNA پلی‌مراز II** رونویسی می‌شوند.

نکته: ترتیب و جایگاه هر یک از ژن‌ها بر روی کروموزوم X مهم است.

با توجه به شکل مذکور (۶-۲) می‌توانید ترتیب آن را این‌جوری حفظ کنید:



a) **ترس** (تحلیل عضلانی روشن، رنگ‌دانه‌ای شدن شبکیه‌ی چشم و سیناپسین ۱) **بالای سانترومر** (بخش بزرگ ترکروموزوم) قرار دارند

پس: ترس بالای سانترومر

b) **کپن ۱۰** (کام شکاف دار وابسته به X، پذیرنده‌ی آنژیوتانسین ۲، نشانگان زالی، ناشنوایی و پروتئین ریبوزومی L۱۰) **پایین سانترومر** (بخش کوچک‌تر کروموزوم) قرار دارند.

پس: کپن ۱۰ پایین سانترومر .

۶- چندتا مطلب درباره‌ی ۷ ژنی که روی کروموزوم X وجود دارد:

a) از اسم **تحلیل عضلانی دوشن** مشخص است که در فرد مبتلا به این بیماری ماهیچه‌ها تحلیل می‌روند.

b) **بیماری رنگدانه‌ای شدن شبکیه چشم**، که از اسمش تابلو است که مربوط به بیماری در چشم است. همه‌ی بیماری‌های چشم را در فصل ۳ (زیست ۲) یک جا آوردیم!

c) **نشانگان زالی – ناشنوایی** نوعی بیماری است که فرد زال و ناشنوا است. در ضمن این بیماری را با زالی (که نوعی بیماری اتوزوم و مغلوب است) اشتباه نگیرید.

d) خوب به اسم «کام شکاف‌دار، وابسته به X) توجه کنید. از اسمش می‌توان فهمید ۲ نوع کام شکاف‌دار وجود دارد. **یکی وابسته به X و دیگری اتوزوم.**

e) با توجه به اسم «پروتئین ریبوزومی L۱۰» می‌توان فهمید ژن رمز کننده‌ی یکی از پروتئین‌های ریبوزومی (در انسان) روی کروموزوم X قرار دارد. که برای ساختن پروتئین ریبوزومی، RNA پلی‌مراز II از روی آن رونویسی می‌کند.

نکته: با توجه به مطلب مذکور می‌توان فهمید که **برای ساختن پروتئین ریبوزومی در انسان باید از روی کروموزوم X رونویسی صورت گیرد.**

۷- چند مطلب درباره‌ی کروموزوم X و نحوه‌ی به ارث رسیدن ژن‌های آن:

a) مردان XY هستند. این یعنی در یک سلول پیکری و هسته‌دار محمد شاکری فقط یک کروموزوم X وجود دارد. و کروموزوم X در مردها همتا ندارد. پس در مردها ژن‌های روی کروموزوم X توسط یک آلل کنترل می‌شوند و بروز جهش مؤثر در ژن‌های X حتما منجر به بیماری می‌شود.

b) زن‌ها XX هستند. این یعنی در هر سلول پیکری زن‌ها (که هسته‌دار است) برای هر یک از صفات وابسته به جنس ۲ تا آلل وجود دارد.

مثال: در هر هسته‌ی پیکری مردها برای پروتئین ریبوزومی L۱۰ یک آلل و در زن‌ها ۲ تا آلل وجود دارد.

c) پسرها XY هستند. بنابراین **پسرها Y را از پدر و X را از مادر دریافت می‌کنند**. بنابراین **ژن‌های موجود در کروموزوم X هیچ‌گاه از پدر به پسر منتقل نمی‌شود.** می‌توان گفت هیچ‌کدام از ۷ ژن مذکور (که در شکل ۶-۲ آمده) از پدر به پسر منتقل نمی‌شود. **و مردها همه‌ی ژن‌های وابسته به X خود را از مادر دریافت کرده‌اند.**

d) دخترها XX هستند. پس **دخترها یکی از کروموزوم‌های X خود را از مادر و یکی دیگر را از پدر دریافت می‌کنند.**

e) **در مردها حداقل ۲ نوع اسپرم تولید می‌شود:** یکی 22A+X و دیگری 22A+Y همان طور که ملاحظه می کنید بعضی از اسپرم‌ها کروموزوم X و بعضی دیگر کروموزوم Y دارند.پس **نمی‌توان گفت در همه‌ی اسپرم‌های انسان آلل‌های مربوط به صفات و پروتئین‌های وابسته به X وجود دارد.**

نکته: در همه‌ی اسپرم ها همه‌ی ژن‌های اتوزوم وجود دارد.

نکته: در همه‌ی تخمک‌ها (گامت زن‌ها) ژن همه‌ی صفات (چه اتوزوم و چه وابسته جنس) وجود دارد. چون تخمک زن‌ها فقط 22A+X است.

f) چون مردها XY و زن‌ها XX اند. و مردها کروموزوم همتای X را ندارند پس به همین دلیل **میزان فراوانی بیماری‌های وابسته جنس در مردها با زن‌ها برابر نیست.**

۸- همه‌ی ژن‌هایی که بر روی کروموزوم X قرار دارند، یوکاریوتی بوده و دارای توالی اگزون واینترون‌اند. ودر رونویسی از آن‌ها حضور عوامل رونویسی و RNAپلی‌مرازهای یوکاریوتی لازم است.

۹- همه‌ی ژن‌هایی که روی یک کروموزوم قرار دارند، پیوسته‌اند و از قانون دوم مندل پیروی نمی‌کنند. بنابراین **همه‌ی ژن‌هایی که روی کروموزوم X قرار دارند. از قانون جور شدن مستقل ژن‌ها پیروی نمی‌کنند.**

یادآوری: ژن‌های بیماری تحلیل عضلانی دوشن ، بیماری رنگ‌دانه‌ای شدن شبکه‌ی چشم، پروتئین سیناپسن ۱، بیماری کام شکاف‌دار وابسته به X، پروتئین ریبوزمی L۱۰، بیماری هموفیلی و بیماری کورنگی بر روی کروموزوم X قرار داشته و از قانون دوم مندل (قانون جور شدن مستقل ژن‌ها) پیروی نمی‌کنند.

۱۰- همه‌ی ژن‌های پیوسته که بر روی یک کروموزوم قرار دارند به اندازه‌ی یکدیگر و با هم همانندسازی می‌شوند اما نمی‌توان گفت ژن-های پیوسته به اندازه‌ی یکدیگر و با هم رونویسی می‌شوند.

۱۱- **تعداد کروموزوم‌های X در مردان و زن‌ها در سلولی که در حال تقسیم نیست:**

مردها:

a) در گلبول‌های قرمز کروموزوم وجود ندارد.

b) در **بعضی** از اسپرم‌ها کروموزوم X وجود ندارد.

c) در **بعضی** از اسپرم‌ها فقط یک کروموزوم X وجود دارد.

d) در هر هسته‌ی یک سلول پیکری مرد یک کروموزوم X وجود دارد.

e) در میون (سلول ماهیچه‌ی اسکلتی) چند هسته و چند کروموزوم X وجود دارد.

زن‌ها:

a) مانند مردها در گلبول‌های قرمز کروموزوم وجود ندارد.

b) در هر یک از گامت‌ها (تخمک) یک کروموزوم X وجود دارد.

c) در هر هسته‌ی سلول پیکری (برخلاف مردها)، دو کروموزوم X وجود دارد.

d) مانند مردها در هر میون چند هسته و چند کروموزم X وجود دارد.

نکته: تقسیم میوز یک در زن‌ها هنگام تولد اغاز می‌شود اما در مردها پس از سن بلوغ.

سؤال: درستی یا نادرستی عبارت‌های زیر را تعیین کنید:

الف) در جاندارانی که ژنوم هسته‌ای نرها با ماده‌ها برابر می‌باشد، ژنوم هسته‌ای گسسته است.

ب) در جانوری که ژنوم هسته‌ای با کاریوتیپ برابر می‌باشد، گامت‌ها حاصل تقسیم میوز می‌باشند.

ج) هیچ‌گاه ممکن نیست در ژنوم طبیعی انسان، ژن رمزکننده‌ی آنزیم محدود کننده یافت شود.

د) در همه‌ی گیاهان که عدد کروموزومی یکسانی دارند، همواره ژنوم هسته‌ای متفاوت می‌باشد.

هـ) در پلاسموسیت‌های دخترها، ژنوم سلولی در دو نوع اندامک اجتماع یافته است.

و) در تکنولوژی زیستی به واسطه‌ی HGP جایگاه ژن‌ها در DNA حلقوی مشخص شد.

ز) در همه‌ی اسپرم‌های طبیعی انسان، همه‌ی ژن‌های لازم برای سنتز ریبوزوم یوکاریوتی یافت می‌شود.

ح) در انسان ژن رنگدانه‌ای شدن شبکیه چشم حد فاصل تحلیل عضلانی روشن و سیناپسین ۱ قرار گرفته است.

ت) در HGP توالی نوکلئوتیدی کل محتوی DNA انسانی تعیین می‌شود.

ی) وراثت ژن سیناپیسن ۱ با ژن پذیرنده‌ی آنژیوتانسین از قانون دوم مندل پیروی می‌کند.

ک) به طور حتم در مردان بر خلاف زنان، گروهی از بیماری‌های مغلوب می‌تواند توسط یک آلل بروز می‌کنند.

پاسخ:

درست: الف- ج- هـ- ح- ت- ک

نادرست: ب، د- و- ز- ی

مهندسی ژنتیک در کشاورزی

۱ اصلاح گیاهان

۱- **اولین** اصلاح کنندگان بذر کشاورزان بودند که بذرهای بهترین گیاه خود را انتخاب می‌کردند، آن‌ها را می‌کاشتند و بدین ترتیب به تدریج در نسل‌های متمادی گیاهان را اصلاح می‌کردند. در قرن بیستم اصلاح کنندگان بذر برای انتخاب گیاهان مبانی ژنتیک را به کار بردند. امروزه مهندسان ژنتیک می‌توانند ویژگی‌های مطلوب را با دست ورزی ژن به گیاهان بیفزایند.

ترکیب: به روشی که **اولین** اصلاح کنندگان بذر انجام می‌دادند میگن **انتخاب مصنوعی**.

نکته: روش **اولین** اصلاح کنندگان بذر طولانی و کم بازده بود.

۲- **انواع تغییر در گیاهان توسط مهندسی ژنتیک به صورت زیر است:**

a) ایجاد گیاهان مقاوم به شرایط خشکی

b) تولید گیاهانی سازگار با خاک‌های مختلف، اقلیم‌های متفاوت و فشارهای محیطی

c) تنظیم سرعت رسیدن میوه‌ها

d) افزایش ارزش غذایی گیاهان

مثال: با انجام روش های مهندسی ژنتیک روی **گیاه برنج**؛ سویه‌های دارای میزان بالای **بتاکاروتن** و **آهن** تولید شده‌اند.

نکته: بتاکاروتن پیش ساز ویتامین A است. در انسان بتاکاروتن به ویتامین A تبدیل می شود.

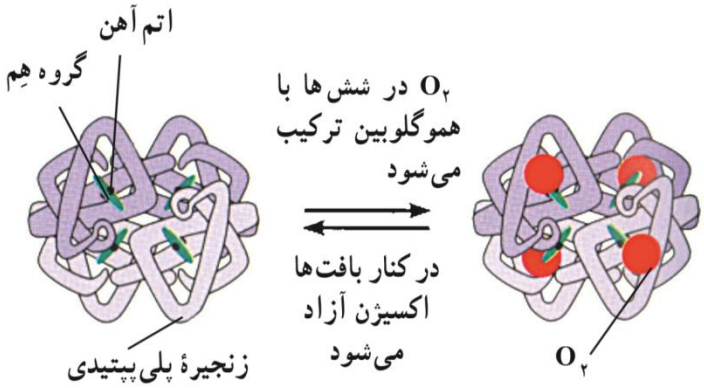
تذکر: در گیاه برنج، کاروتن به ویتامین A تبدیل نمی شود

نکته: این دست آوردها در بخش‌هایی از قاره‌ی آسیا اهمیت خاصی دارد، زیرا **بسیاری** از مردم آن از کمبـود **ویتـامین A** و **آهـن** رنـج می‌برند.

ترکیب : ویتامین A، محلول در چربی بوده و در روده‌ی باریک جذب مویرگ‌های لنفی (نه مویرگ‌های خونی) می‌شـود و در نهایـت بـه **یکی از** سیاهرگ‌های بدن می‌ریزد.

ترکیب: آهن در ساختار هموگلوبین و میوگلوبین قرار داشته و در نقل و انتقال اکسیژن دخالت می‌کند.

کمبود آهن بدن باعث کوچک شدن گلبول قرمز و کاهش هموگلوبین آن‌ها می‌شود (یعنی بروز کم خونی!) در ضمن در بـدن فـرد بـالغ و سالم در حدود **۴ گرم آهن** وجود دارد که **بخش اصلی** آن در هموگلوبین گلبول‌های قرمز و میوگلوبین ماهیچه‌هاست.



e) تولید گیاهان زراعی مقاوم به علف کش‌هایی که در طبیعت زود تجزیه می‌شوند.

نکته: ویژگی این نوع گیاهان زراعی باعث موارد زیر می‌شـود: ۱- از بین بردن علف‌های هرز بدون آسیب دیـدن گیاهـان زراعـی ۲- برای از بین علف‌های هرز نیازی به شخم زدن نیست. بنابراین خاک‌های سطحی **کم‌تر** دستخوش فرسایش می‌شوند.

f) ایجاد گیاهان مقاوم نسبت به حشرات و عدم نیاز به استفاده از سموم حشره‌کش و عدم آلودگی محیط زیست.

نکته: در همه حالات (از a تا f) گیاهان تحت دستورزی ژن قرار گرفتند نه حشرات و سموم!

تذکر: اگر ژن وارد شده به موارد بالا از گونه ی دیگر باشند، گیاهان حاصل از دستورزی ژن ، همگی جاندار تراژن محسوب می‌شوند.

۳- وکتورهای گیاهی

۱- تا چندین سال، مهندسان ژنتیک وکتور مناسبی که بتواند ژن‌ها را به گیاه انتقال دهد، در دسترس نداشتند.

۲- تا این‌که آنان دریافتند که **عامل گال نوعی پلازمید باکتریایی است. گال نوعی بیماری گیاهی است که باعـث ایجـاد تومورهای بزرگ بر روی گیاه می‌شود.** این پلازمید، **پلازمید Ti (القا کننده ایجاد تومور)** نام دارد.

نکته: منظور از تومور، توده‌های سلولی است. بنابراین پلازمید Ti دارای ژن ایجاد کننده سرطان (در گروهی از گیاهان) است.

ترکیب: در طی سرطان سلول ها به طور غیر طبیعی تقسیم می‌شوند و توده‌های سلولی ایجاد می‌کنند.

ترکیب: هورمون **اکسین** سبب طویل شدن دیواره سلولی، هورمون **سیتوکینین** سبب افزایش تقسیم سلولی در گیاهان می‌شود.

۴- با توجه به مطالب بالا می‌توان فهمید که پلازمید Ti وقتی یک گیـاه را آلـوده کـرد در نهایـت سـبب سـنتز هورمـون‌هـای اکسـین و سیتوکینین در گیاه می‌شود. وقتی مقادیر این هورمون‌ها در گیاه بیش از حد طبیعی باشد تقسیم سلولی (میتوز + سیتوکینز) و رشد ابعاد سلول افزایش می‌یابد. و در نهایت در گیاه مذکور سرطان بروز می‌کند.

۵- پلازمید Ti **بسیاری** از گیاهان زراعی مثل **گوجه فرنگی، توتون و سویا** را آلوده مـی‌کنـد. ایـن پلازمیـد وارد سـلول‌هـای گیـاهی می‌شود و بدین طریق گیاه را آلوده می‌کند.

نکته: باکتری دارای پلازمید Ti نمی‌تواند **گیاه گندم** را آلوده کند.

۳- درباره پلازمید Ti باید مطالب زیر را بدانید:

a) نوعی DNA حلقوی (کمکی) در **نوع خاصی** از باکتریست.

b) دارای ژن‌هایی است که در DNA اصلی باکتری (سلول دربرگیرنده) وجود ندارد.

c) می تواند مستقل از سلول دربرگیرنده همانند سازی کند.

d) دارای یک جایگاه آغاز همانند سازی و یک جایگاه پایان همانند سازی است.

e) برای نوع خاصی از آنزیم محدود کننده دارای جایگاه تشخیص است.

f) ژن‌های آن (مثلاً ژن ایجاد کننده تومور) در اپران قرار دارند.

g) ژن ایجاد کننده‌ی تومور آن، فقط توسط RNA پلی‌مراز یوکاریوتی(II) رونویسی می‌شود.

نکته: ژن ایجاد کننده‌ی تومور موجود در پلازمید Ti تا وقتی که درون باکتری قرار دارد خاموش است. وقتی پلازمید Ti وارد سلول‌گیاهی شد. این ژن روشن شده و توسط RNA پلی‌مراز II رونویسی می‌شود.

تذکر: ژن‌های پلازمید Ti برای اتصال عوامل رونویسی هیچ جایگاهی ندارند پس فاقد توالی افزاینده هستند.

h) وقتی باکتری در حال آلوده کردن میزبان خود است، پلازمید Ti از دیواره‌ی سلولی و غشاء عبور می‌کند.

i) پلازمید Ti هم توسط DNA پلی‌مراز پروکاریوتی (وقتی در باکتری است) و هم توسط DNA پلی‌مراز یوکاریوتی (وقتی در سلول گیاهی است) همانندسازی می‌شود.

۶- به ۲ طریق می‌توان ژن خارجی را وارد گیاه کرد: یکی با استفاده از **پلازمید Ti** تغییر یافته و دیگری با استفاده از **تفنگ ژنی**

مراحل تغییر در گیاه با استفاده از پلازمید Ti تغییر یافته:

a) ابتدا پلازمید Ti را از باکتری خارج می‌کنیم.

b) طبق گفته‌ی کتاب درسی محققان ژن ایجاد کننده‌ی تومور را از پلازمید Ti خارج می‌کنند.

نکته: در مرحله‌ی b از آنزیم محدود کننده‌ی خاصی استفاده شد.

c) در مرحله‌ی بعد یک DNA خاص (ژن خارجی که مورد نظر محققان است) را جایگزین ژن ایجاد کننده‌ی تومور می‌کند.

نکته: در مرحله‌ی c از DNA لیگاز برای تشکیل پیوند فسفودی استر استفاده شد.

d) سپس DNA نوترکیب را به باکتری بر می‌گردانند.

e) باکتری را مجاور سلول گیاهی مورد نظر قرار داده تا آن را آلوده کند و پلازمید نوترکیب وارد سلول گیاهی شود.

f) حال سلول گیاهی تغییر یافته و سلول‌های حاصل از تقسیم آن دارای ویژگی‌های مورد نظر خواهند بود.

مراحل تغییر گیاه با استفاده از تفنگ ژنی:

a) ژن مورد نظر را که می‌خواهیم وارد گیاه کنیم از سایر ژن‌ها جدا می‌کنیم.

نکته: در این فرآیند باید از آنزیم محدود کننده استفاده کرد.

b) در مرحله‌ی بعد با استفاده از تفنگ ژنی، ژن مورد نظر را به طور مستقیم به سلول گیاه مورد نظر شلیک می‌کنیم.

نکته: باکتری دارای پلازمید Ti نمی‌تواند گیاه گندم را آلوده کند. بنابراین اگر بخواهیم ژنی را وارد گیاه گندم کنیم باید از تفنگ ژنی استفاده کنیم.

۷- فرض بگیرد می‌خواهیم ژن تثبیت کننده‌ی نیتروژن را از ریزوبیوم (نوعی باکتری) به گیاه گندم وارد کنیم. در این حالت باید ژن تثبیت کننده‌ی نیتروژن را از ریزوبیوم خارج کنیم و سپس توسط تفنگ ژنی به سلول‌های گیاه گندم شلیک کنیم.

نکته: در مثال بالا چون در گندم ژن بیگانه (ژن تثبیت کننده‌ی نیتروژن که مربوط به نوعی از باکتری بود) وجود دارد، پس گندم تغییر یافته نوعی **جاندار تراژن** محسوب می‌شود.

۸- پلازمید Ti موارد زیر را آلوده نمی‌کند:

a) **سلول‌های گیاهی مرده:** عناصر آوندی- تراکئید- فیبر- اسلکروئید- کلاهک ریشه

b) **سلول‌های زنده بدون هسته:** سلول‌های غربالی بافت آوند آبکش

c) **سلول‌های زنده که توانایی تقسیم شدن ندارند:** سلول‌های بافت کلانشیمی

d) **سلول‌های گیاه گندم**

۹- همه‌ی روش‌های انتقال ژن در یک نگاه:

a) با استفاده از پلازمید

b) با استفاده از ویروس‌ها مثل باکتریوفاژ

نکته: انتقال ژن به باکتری توسط باکتریوفاژ می‌تواند صورت گیرد.

نکته: انتقال ژن به سلول‌های جانوری (مثلاً ژن درمانی) توسط ویروس جانوری صورت می‌گیرد.

c) با استفاده از تفنگ ژنی

d) ترانسفرماسیون

ترکیب: در فرآیند ترانسفورماسیون، باکتری با دریافت مواد ژنتیک از محیط خارج، در خصوصیات ظاهری خود تغییراتی پدید می‌آورند.

e) هم‌یوغی

ترکیب: در پروکاریوت‌ها (باکتری‌ها)، پیلی یک باکتری به باکتری دیگر می‌چسبد و ماده‌ی ژنتیک، از باکتری دارای پیلی به باکتری بدون پیلی منتقل می شود. هم یوغی به باکتری‌ها امکان می‌دهند تا ژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها را از سرده‌ای به سرده‌ی دیگر منتقل کنند.

سؤال: درستی یا نادرستی عبارت‌های زیر را تعیین کنید؟

الف) انتخاب مصنوعی نمونه‌ای از اصلاح گیاهان به روش مهندسی ژنتیک می‌باشد.

ب) گیاه برنج تغییر یافته به روش مهندسی ژنتیک می‌تواند ویتامین A و آهن تولید کند.

ج) پلازمید Ti تغییر یافته به روش مهندسی ژنتیک می‌تواند پیش ماده‌ی آنزیم یوکاریوتی باشد.

د) هیچ‌گاه ممکن نیست آنزیم‌های یوکاریوتی از روی ژن‌های پروکاریوتی رونویسی کنند.

هـ) همواره همه‌ی ژن‌های پروکاریوتی در جانداران بدون هسته بیان می‌شوند.

و) همیشه به منظور وارد کردن ژن به سلول‌های گیاهی حضور جانداران پروکاریوتی الزامی است.

پاسخ

درست: ج

نادرست: الف- ب- و- هـ- و

یادآوری: ژن القا کننده‌ی تومور (که در پلازمید Ti وجود دارد) هیچ‌گاه در خود باکتری بیان نمی‌شود و برای بیان آن باید وارد سلول گیاهی شود و توسط RNA پلی‌مراز II رونویسی و ترجمه توسط ریبوزوم یوکاریوتی صورت می‌گیرد (رد «هـ»)

توجه: *اگر میخوای موفق بشی فقط و فقط باید متفاوت فکر کنی، متفاوت بفونی و متفاوت باشی ... .*

همان‌طور که می بینید میشه متن کتاب درسی را جور دیگر دید جور دیگری که حتی هنوز هیچ کتاب کمک آموزشی به آن توجه نکرده است اما آیا طراح‌های کنکور هم ساده به متن کتاب کتاب درسی می‌نگرند؟!!؟

مهندسی ژنتیک در دامداری

۱ روش سنتی

۱- در گذشته گاوهایی که شیر بیش‌تری تولید می‌کردند. به امید تولید نسل‌های با شیر بیش‌تر، باردار می‌شوند. این فرآیندهای متوالی، **طولانی** و **کم‌بازده** بودند.

ترکیب: به این روش می‌گن **انتخاب مصنوعی** که نوعی **انتخاب جهت‌دار** است.

۲- کمی بعد از مورد ۱ **برخی** از دامداران برای افزایش تولید شیر به رژیم غذایی گاوها هورمون‌های رشد می‌افزایند. در گذشته هورمون‌های رشد از مغز گاوهای کشته شده استخراج می‌شد(از هیپوفیز پیشین این گاوها).

۲ روش مهندسی ژنتیک

۱- امروزه ژن هورمون رشد گاوی را از ژنوم گاو استخراج می‌کنند و سپس طی مراحلی که تاکنون آموخته‌اید، ژن مذکور را وارد باکتری می‌کند. باکتری، این هورمون را با هزینه‌ای کم تولید می‌کند. بنابراین اضافه کردن آن به رژیم غذایی گاوها مقرون به صرفه خواهد بود.

نکته: باکتری که دارای ژن هورمون رشد گاوی (ژن بیگانه) است، **تراژن** محسوب می‌شود.

۲- کاربرد دیگر تکنولوژی ژن در دامداری افزودن ژن‌های انسان به دام‌هاست . هدف از این کار آن است که پروتئین‌های انسان در شیر دام‌ها ظاهر شود.

این روش **بیش‌تر** برای پروتئین‌های پیچیده‌ی انسانی به کار می‌روند که از طریق تکنولوژی ژن در باکتری‌ها تولید نمی‌شوند.

نکته: منظور از پروتئین‌های پیچیده‌ی انسانی، پروتئین‌هایی هستند که برای ساخته شدن آن حضور شبکه‌ی آندوپلاسمی ضرورت داشته و چند زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی دارند. باکتری چون اندامک ندارد نمی‌تواند این پروتئین‌ها را بسازد.

نکته: پادتن متشکل از چند زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی است. بنابراین اگر ژن‌های رمز کننده‌ی پادتن را به باکتری وارد کنیم، باکتری نمی‌تواند پادتن بسازد. اما می‌تواند آن ژن را کلون کند یا از روی آن رونویسی کند و مقدار زیادی mRNA بسازد.

۳- پس تولید پروتئین‌های انسانی توسط جانور، با استفاده از الکتروفورز پروتئین‌های مذکور را از شیر جدا نموده و برای اهداف دارویی به کار می‌برند.

۴- جانداری که در آن ژن بیگانه (ژن گونه‌ی دیگر) وجود داشته باشد، **تراژنی** است.

مثال:

a) باکتری که دارای ژن رمز کننده‌ی rRNAی یوکاریوتی است(اولین جاندار دست‌ورزی شده).
b) باکتری که دارای ژن انسولین است.
c) گاوی که دارای ژن‌های پروتئین انسانی است.
d) گیاهانی که به منظور اصلاح طی مهندسی ژنتیک، ژن بیگانه‌ای را دریافت کرده‌اند.
e) فردی که در طی ژن درمانی، ژن بیگانه‌ای را دریافت کرده است.

تذکر: انتقال محصول ژن (نه خود ژن) به جاندار دیگر، سبب ایجاد جاندار تراژن نمی‌شود.

نکته: موارد زیر تراژن نیستند:

a) جانداری که نوع خاصی از پروتئین یا RNA دریافت کرده است.
b) فردی که در طی ژن درمانی، ژن خارجی را از افراد هم گونه دریافت کرده است.
c) کلون کردن از سلول‌های تخصص یافته
d) باکتری که در طی هم‌یوغی پلازمید دریافت می‌کند.

کلون کردن

۱ کلون کردن با استفاده از سلول‌های جنینی

۱- در گذشته (منظور از قبل از سال ۱۹۹۷ است) دانشمندان با استفاده از **سلول های جنینی با نوزادی** جانوران را کلون می‌کردند.

۲- در گذشته دانشمندان هسته‌ی دیپلوئیدی (2n) **تمایز نیافته‌ی جنینی** (یا نوزادی) را به درون تخمک خالی (بدون هسته) وارد می‌کردند و سپس از رشد سلول مذکور جانور کلون شده ایجاد می‌کردند.

نکته: آن‌چه که در ۲ گفتم می‌گن کلون کردن با استفاده از سلول های تمایز نیافته (جنینی یا نوزادی).

۲ کلون کردن با استفاده از سلول‌های تخصص یافته

۱- در سال ۱۹۹۷ همکار عزیز و دوست مهربانم **آقای یان ویلموت** قصد داشت من (محمد شاکری) را کلون کند و کاری کند کره‌ی زمین چندتا از من را داشته باشد. اما چون من وقت نداشتم، ایشان رفتند یک **گوسفند صورت سفید** را یافت و با استفاده از **سلول‌های تمایز یافته‌ی بدن او** گوسفند دیگری (که صورتش سفید بود) را کلون کرد.

نکته: طی آزمایش یان ویلموت یک بره با کلون کردن هسته‌ی سلولی از پستان گوسفند بالغ به وجود آمد. تا قبل از این آزمایش محققان تصور می‌کردند نمی‌توان از سلول‌های تمایز یافته برای تولید موجود زنده‌ی کامل استفاده کنند. آزمایش و یلموت این فرضیه را رد کرد.

۲- مراحل ایجاد دالی توسط دوست عزیزم (یان ویلموت):

a) خروج سلول‌های غده‌های پستانی یک گوسفند صورت سفید.

نکته: سلول خارج شده از غده‌های پستانی **تمایز یافته** (تخصص یافته) و **دیپلوئیدی** (2n) بود که توانایی میوز نداشت.

b) سلول استخراج شده در (a) را در محیط کشت ویژه‌ای قرار داد.

نکته: هدف از این مرحله **متوقف کردن چرخه‌ی سلولیِ** سلول مذکور است.

نکته: در این مرحله زمینه برای تمایز زدایی سلول مذکور فراهم می‌شود.

c) در مرحله‌ی بعد سلول تخمک (اوول) را از گوسفند دیگری استخراج کرد.

نکته: سلولی که در © استخراج شد **هاپلوئیدی** (n) بود و **یک مجموعه کروموزوم** داشت.

d) آقای یان ویلموت در مرحله‌ی **بعد هسته‌ی هاپلوئیدی را از سلول تخمک مذکور خارج کرد.**

ترکیب: در فصل (زیست ۲) خواندیم « تغذیه‌ی جنین تا چند روز پس از تشکیل سلول تخم بر عهده‌ی اندوخته‌ی غذایی تخمک است که مخلوطی از **لیپید** و **پروتئین** است. »

بنابراین سلول تخمک استخراج شده (که الان فاقد هسته است)، دارای اندوخته‌ی غذایی (لیپید و پروتئین) است.

e) آقای ویلموت آمد و سلول هسته‌دار (سلول 2n پیکری که از غده‌ی پستانی استخراج شده بود) را در کنار تخمک (که فاقد هسته بود) قرار داد.

f) با استفاده از **شوک الکتریکی** کاری کرد که غشای هر دو سلول (سلول دیپلوئیدی دارای هسته و تخمک بدون هسته) باز شود و دو سلول ادغام شود.

تذکر: در طی این مرحله غشای پلاسمایی دو سلول با یکدیگر ادغام شد نه غشای هسته!

یادآوری: هسته‌ی سلول تخمک را خارج کردیم.

نکته: تا این‌جا ویلموت جان یک سلول جدیدی ساخت که شبیه سلول زیگوت بود و قدرت تمایز بالایی دارد و می‌تواند رشد کند، تمایز یابد و به یک جاندار جدید تبدیل شود.

g) دوست عزیزم (ویلموت) سلولی را که ساخته بود در محیط کشت قرار داد و سپس سلول مذکور طی میتوزهای متوالی رشد کرد و به بلاستوسیست تبدیل شد.

تذکر: سلول تخم نمی‌تواند در رحم جایگزین شود.

نکته: تقسیمات اولیه‌ی سلول مذکور پس از شوک الکتریکی و ادغام دو غشای سلول در **محیط آزمایشگاه** شروع شد.

h) در مرحله‌ی بعد همان دوستم آمد و اولین سلول‌های جنینی (بلاستوسیست) را در رحم یک گوسفند دیگری قرار داد.

نکته: به این گوسفندی که در h گفتم بهش می‌گن **مادر جانشینی** .

ترکیب: بلاستوسیست به دیواره‌ی داخلی رحم متصل می‌شود و سپس جفت تشکیل می‌گردد. جفت احتیاجات جنین (غذا، گازهای تنفسی و ...) را فراهم می‌کند.

i) پس از ۵ ماه حاملگی بره‌ای متولد شد که از نظر ژنی کاملاً شبیه گوسفندی بود که سلول غده‌ی پستانی آن استخراج شده بود. آقای ویلموت اسم این گوسفند را گذاشت دالی.

نکته: دالی از نظر **ژنوم هسته‌ای کاملاً** شبیه گوسفندی بود که سلول پستانی را داد. اما **ژنوم سیتوپلاسمی** (میتوکندری) آن شبیه گوسفندهای دهنده‌ی سلول پستانی و تخمک بود.

نکته: مادر جانشینی با گوسفندی که دهنده‌ی تخمک بود هم نژاد بودند.

نکته: دالی اولین پستانداری است که توسط مهندسی ژنتیک از سلول تمایز یافته (تخصص یافته) کلون شده است.

تذکر: دالی جانور تراژن نیست! چون در آن DNA بیگانه (گونه‌ی دیگر) وجود ندارد.

۳ چندتا نکته

۱- کلون کردن به روش ویلموت در **همه‌ی** پستانداران (گاو، موش، انسان و ...) امکان‌پذیر است.

۲- از آزمایش ویلموت می‌توان فهمید که **در طی شرایطی سلول‌های تخصص یافته‌ی جانوری** (تمایز یافته) **می‌توانند تمایز زدایی انجام دهند.**

ترکیب: بسیاری از سلول های گیاه بالغ می‌توانند **همه‌ی** ژن‌های خود را فعال کنند. چنین سلول‌هایی می‌توانند تقسیم شوند و توده‌هایی از سلول‌های **تمایز نیافته** به نام **کالوس** را تولید کنند. به عبارت دیگر **تمایز زدایی** انجام می‌دهند.

۴- در آزمایش ویلموت لقاح صورت نگرفت و سلول زیگوت تشکیل نشد.

۵- **سلول واجد هسته‌ی دیپلوئیدی** (نه تخمک) وارد محیط کشت ویژه‌ای به منظور متوقف کردن چرخه‌ی سلولی شد.

۶- **در آزمایش ویلموت شوک الکتریکی ۲ هدف زیر انجام شد:**

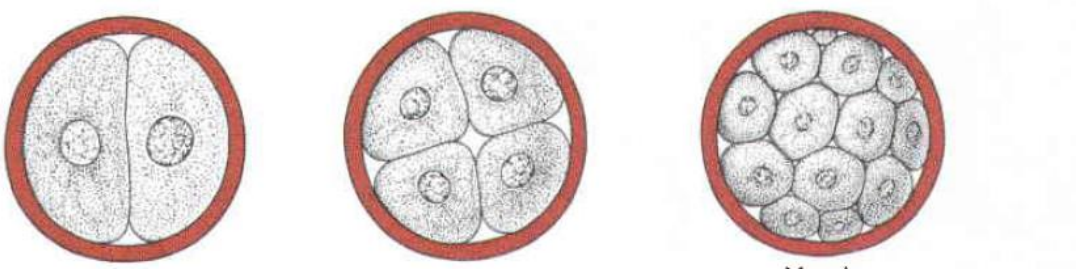
a) ادغام غشای پلاسمایی دو سلول با هم

b) شروع تقسیم در سلول تشکیل یافته

۷- در آزمایش ویلموت اندازه‌ی سلول تخمک بزرگ‌تر از سلول دیپلوئیدی بود بنابراین نسبت سطح شده به حجم در سلول دیپلوئیدی بیش‌تر از سلول تخمک است.

۸- در طی آزمایش ویلمون، جانور حاصل تراژن نبود، از آنزیم محدود کننده استفاده نشد و DNA نوترکیب ساخته نشد.

۹- **تقسیمات اولیه‌ی سلول تشکیل شده در آزمایش ویلموت** (مانند تقسیمات اولیه‌ی سلول تخم در لوله فالوپ) **همراه با تولید سلول‌های کوچک‌تر است. و حجم مجموع سلول‌ها با حجم سلول اولیه برابر است.**



۱۰- رویانا اولین جانور شبیه سازی شده در خاورمیانه بود که در مهرماه (*ماه تولد خودم!!*) در اصفهان متولد شد. هسته‌ی سلول به‌کار رفته در تولد رویانا از **سلول لاله‌ی گوش یک گوسفند نر** گرفته شده است. بنابراین **رویانا نر بود**. رویانا به علت بیماری مرد. پژوهشگران ایرانی امیدوارند بتواند از فناوری شبیه‌سازی در تولید سلول‌های مورد نیاز برای درمان بیماران قطع نخاعی استفاده کنند.

۱۱- با توجه به مطلب ۱۰ و آزمایش ویلموت می‌توان فهمید که با استفاده از سلول‌های پیکری (سوماتیک) که واجد هسته و اندامک‌اند می‌توان هر پستانداری را شبیه‌سازی کرد.

سؤال: درستی نادرستی عبارت‌های زیر را تعیین کنید:

الف) دانشمندان تا کنون نتوانستند از سلول‌های جنینی به منظور کلون کردن استفاده کنید.

ب) گیاهی که واجد ژن تثبیت کننده‌ی ریزوبیوم می‌باشد، تراژن محسوب می‌شود.

ج) در طی آزمایش ویلموت، با استفاده از شوک الکتریکی غشای هسته‌ها ادغام شد.

د) به منظور متوقف کردن چرخه‌ی سلولی، تخمک درون محیط کشت ویژه‌ای انتقال یافت.

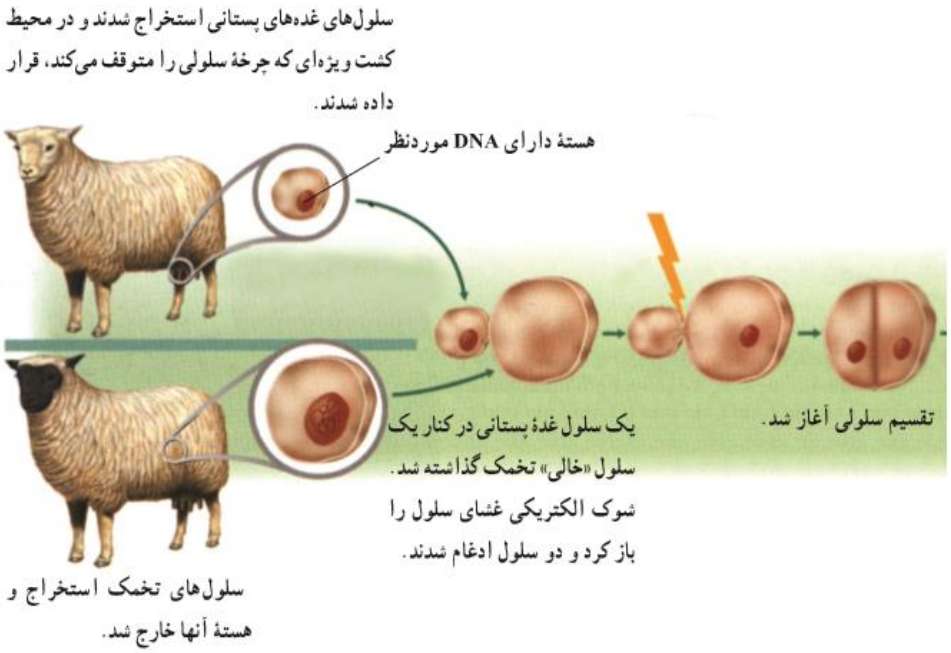
هـ) پس از اتصال سلول تخم به دیواره‌ی رحم، اولین تقسیمات جنین آغاز شد.

و) همه‌ی جانوران حاصل از کلون شدن به روش مهندسی ژنتیک، طی میوز تخمک تولید می‌کنند.

پاسخ:

درست: ب

نادرست: الف- ج- د- هـ- و



پس از پنج ماه حاملگی بره‌ای متولد شد که از نظر ژنی کاملاً شبیه گوسفندی بود که سلول غدهٔ پستانی آن استخراج شده بود.