فصل دوم

تکنولوژی زیستی

مهندسی ژنتیک

فرآیند دست ورزی ژن‌ها، برای تحقق اهداف کاربردی، مهندسی ژنتیک نامیده می‌شود. اساس این کار نخستین بار توسط کوهن و بایر طراحی شد. کوهن و بایر ژن رمز کننده‌ی RNA ی ریبوزومی را از قورباغه‌ی پنجه‌دار آفریقایی جدا و سپس از طریق حامل‌های ژنی به باکتری ایشریشیا کلای وارد کردند، راه‌انداز این ژن در باکتری توسط RNA پلی‌مراز پروکاریوتی شناسایی و در نتیجه ژن بیان شد در حالی که RNAپلی‌مرازI برای شناسایی راه‌انداز همین ژن در قورباغه نیاز به عوامل رونویسی داشت. باکتری ایشریشیا کلای اولین **جاندار تراژنی** معرفی شد. هر جانداری که ژن بیگانه دریافت کند به جاندار تراژنی معروف است.

۱ــ این قورباغه به‌عنوان جاندار آزمایشگاهی انتخاب شد.

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

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

شکل ۱–۲: دست ورزی ژنی توسط کوهن و بایر

تمرین ۱- در آزمایش کوهن و بایر، ژن وارد شده در اولین جاندار دست ورزی شده، محصولی‌ایجاد کرد که ..... داشت. (سراسری ۸۹)

۱) پیوند پپتیدی ۲) کدون ترجمه ۳) جایگاه اتصال آمینواسید ۴) پیوند فسفودی استر

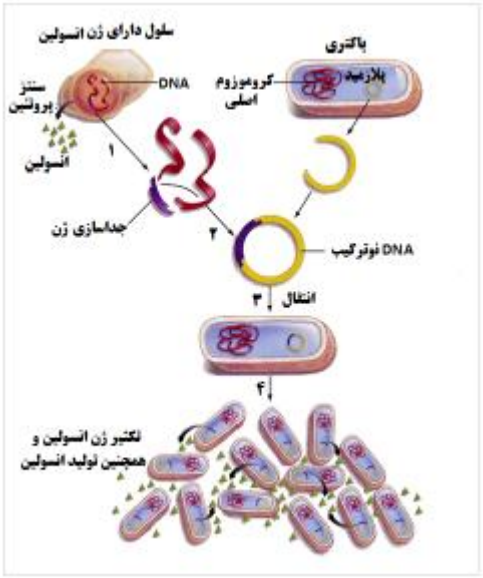
پاسخ: *اولین ژنی که مورد دست‌ورزی قرار گرفت، رمزکننده‌ی rRNA بود و این مولکول پس از رونویسی دارای پیوند فسفودی استر است. درحالی‌که پیوند پپتیدی در پروتئین‌ها، کدون ترجمه در mRNA و جایگاه اتصال آمینواسید در tRNA وجود دارد.* ***(گزینه‌ی ۴)***

تمرین۲- از آزمایش کوهن و بایر می‌توان نتیجه گرفت که با انتقال یک ژن یوکاریوتی به سلول پروکاریوتی، ...

۱) بیان آن ژن غیرممکن است، چون ژن‌های یوکاریوتی گسسته اند.
۲) رونویسی صورت می‌گیرد چون باکتری‌ها هم عوامل رونویسی دارند.
۳) رونویسی با اتصال مستقیم RNA پلی‌مراز پروکاریوتی به راه‌انداز امکان‌پذیر است.
۴) تنظیم بیان ژن غیرممکن است چون در باکتری‌ها محل رونویسی و ترجمه در سیتوپلاسم است.

پاسخ: *باکتری‌ها عوامل رونویسی ندارند و RNAپلی‌مراز می تواند مستقیما راه‌انداز را شناسایی و به آن متصل شود.* ***(گزینه‌ی ۳)***

در مهندسی ژنتیک اهداف مختلفی دنبال می‌شود ولی یکی از مهم‌ترین آن‌ها تولید ژن یا فراورده‌ی آن به مقدار انبوه است. برای این کار از جاندارانی مثل باکتری‌ها استفاده می‌شود که بتوانند ژن را سریع تکثیر کنند.



شکل ۲-۲: مراحل تکثیر و تولید ژن انسولین توسط باکتری

اساس کار مهندسی ژنتیک

اگر بخواهند ژنی را به تولید انبوه برسانند نیاز است ژن مورد نظر را از DNA جدا و سپس به حامل ژن یا وکتور منتقل کنند سپس حامل ژن به باکتری منتقل و در درون آن تکثیر شود از این رو مهندسی ژنتیک از چهار مرحله‌ی اساسی تشکیل شده است که در بسیاری از آزمایش‌های مهندسی ژنتیک یکی یا هر چهار مرحله انجام می‌شود. این چهار مرحله عبارتند از:

۱) برش DNA ۲) تولید DNA نوترکیب ۳)کلون ژن ۴)غربال کردن

چهار مرحله‌ی اصلی مهندسی ژنتیک در ارتباط با ژن انسولین

مرحله‌ی اول – برش DNA

اگر بخواهیم ژن انسولین را به تولید انبوه برسانیم ابتدا باید ژن مورد نظر را از کروموزوم جدا کنیم به‌عبارتی دیگر بایستی در DNA ی (دو سر ژن) برشی ایجاد کنیم، این کار توسط **آنزیم‌های محدودکننده** صورت می‌گیرد.

☑ **نکته ۱- ۲ : منظور از بریدن DNA یعنی شکستن پیوند فسفودی استر و منظور از اتصال دو DNA، یعنی تشکیل پیوند فسفودی استر میان آن دو است.**

آنزیم‌های محدودکننده مختص باکتری‌ها هستند یعنی ژن رمزکننده‌ی آنها در یوکاریوت‌ها وجود ندارد. آنزیم‌های محدود کننده بر روی DNA دارای **جایگاه تشخیص** هستند، این جایگاه‌های خاص، توالی‌های کوتاه (اغلب ۲ تا ۸ جفت نوکلئوتید) و دو رشته‌ای در DNA بوده و حالت قرینه دارند یعنی عکس یکدیگر می‌باشند:

$$\rightarrow AAGCTT....$$
$$....TTCGAA \leftarrow$$

تمرین ۳- اگر توالی یکی از رشته‌های جایگاه تشخیص آنزیم محدودکننده‌ای (با ۸ جفت نوکلئوتید)، به‌صورت زیر

... CTCGAG ... فرض شود، در جاهای خالی کدام نوکلئوتیدها می‌توانند قرار گیرند؟

۱) C -T ۲) G - A ۳) A - T ۴) C - C

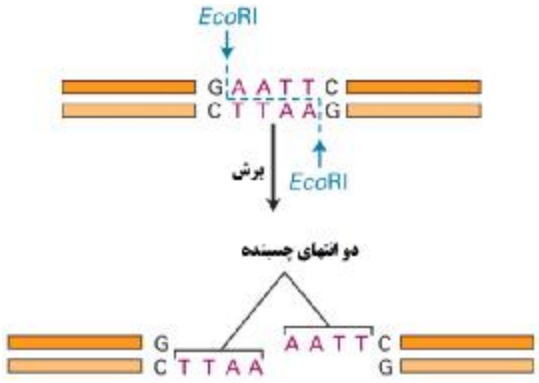
پاسخ: *جایگاه تشفیص آنزیم‌های محدود کننده توالی‌های کوتاه قرینه دو طرفه‌اند. بنابراین اگر بخواهیم جاهای خالی را با گزینه‌ها پر کنیم فقط با گزینه ۳ توالی قرینه دو طرفه خواهد شد.*

آنزیم‌های محدود کننده از نظر برش در DNA به دو دسته تقسیم می‌شوند:

الف) بعضی از آنزیم‌های محدود کننده برش DNA را تنها با شکستن پیوند فسفودی استر انجام می‌دهند. در این حالت دو محل برش دیگر نمی‌توانند به هم بچسبند، اصطلاحاً دو انتهای صاف ایجاد می‌کنند:

$$AAG:CTT \Rightarrow AAG \quad CTT$$
$$TTC:GAA \quad\quad TTC \quad GAA$$

ب) بیشتر آنزیم‌های محدودکننده در برش خود علاوه بر شکستن پیوندهای فسفودی استر پیوندهای هیدروژنی را نیز می‌شکنند این آنزیم‌ها بعد از برش در جایگاه تشخیص خود، قطعاتی کوتاه و تک رشته‌ای در هر دو انتها ایجاد می‌کنند که با یکدیگر مکمل‌اند، این دو انتها، انتهای چسبنده نامیده می‌شوند چرا که بازهای آن‌ها همواره یکسان و مکمل هم بوده و می‌توانند از طریق پیوند هیدروژنی به هم بچسبند در این چسبندگی نیاز به آنزیم نیست. آنزیم محدودکننده‌ی EcoRI یکی از این نوع آنزیم‌هاست. جایگاه تشخیص آن دارای ۶ جفت نوکلئوتید با ۱۰ پیوند فسفودی استر و ۱۴ پیوند هیدروژنی است. به دنبال شکسته شدن پیوندهای فسفودی استر بین نوکلئوتیدهای آدنین‌دار و گوانین‌دار در هر رشته، ۸ پیوند هیدروژنی بین بازهای آدنین و تیمین نیز شکسته می‌شوند که در نهایت دو انتهای چسبنده حاصل می‌شوند (شکل ۳-۲)



شکل ۳-۲: تولید انتهای چسبنده پس از برش با آنزیم محدودکننده‌ی EcoRI

تمرین۴- اگر محل برش آنزیم محدودکننده بین دو A باشد هر انتهای چسبنده در توالی TAACGTTA / ATTGCAAT **چند نوکلئوتید دارد؟**

پاسخ:

اگر برش را به صورت مقابل نشان دهیم هر انتهای چسبنده دارای توالی ACGT *خواهد بود.*

TA|ACGTTA
ATTGCA|AT

تمرین ۵- Hind III آنزیم محدودکننده‌ای است که جایگاه تشخیص آن به صورت $\frac{AAGCTT}{TTCGAA}$ **است، اگر محل برش بین نوکلئوتیدها مشابه آنزیم EcoRI باشد، هر انتهای چسبنده چند نوکلئوتید خواهد داشت؟**

۱) ۱ ۲) ۲ ۳) ۳ ۴) ۴

پاسخ:

محل برش آنزیم EcoRI *بین نوکلئوتیدهای* G *و* A *است، لذا اگر برش به صورت زیر نشان داده شود، هر انتهای چسبنده دو مرفی و به صورت* GC *خواهد بود.(* ***گزینه‌ی۲****)*

AA|GCTT
TTCG|AA

تمرین۶- هر انتهای چسبنده‌ی حاصل از برش یک جایگاه تشخیص آنزیم محدودکننده حداقل ... دارد.

۱) یک نوکلئوتید ۲) دو نوکلئوتید از یک نوع
۳) دو نوکلئوتید از دو نوع ۴) چهار نوکلئوتید از دو نوع

پاسخ:

به دلیل قرینه بودن توالی های جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده هر انتهای چسبنده حداقل از ۲ نوع نوکلئوتید تشکیل می شود.(***پاسخ: گزینه‌ی۳*** *)*

مرحله‌ی دوم مهندسی ژنتیک – ساختن مولکول نوترکیب

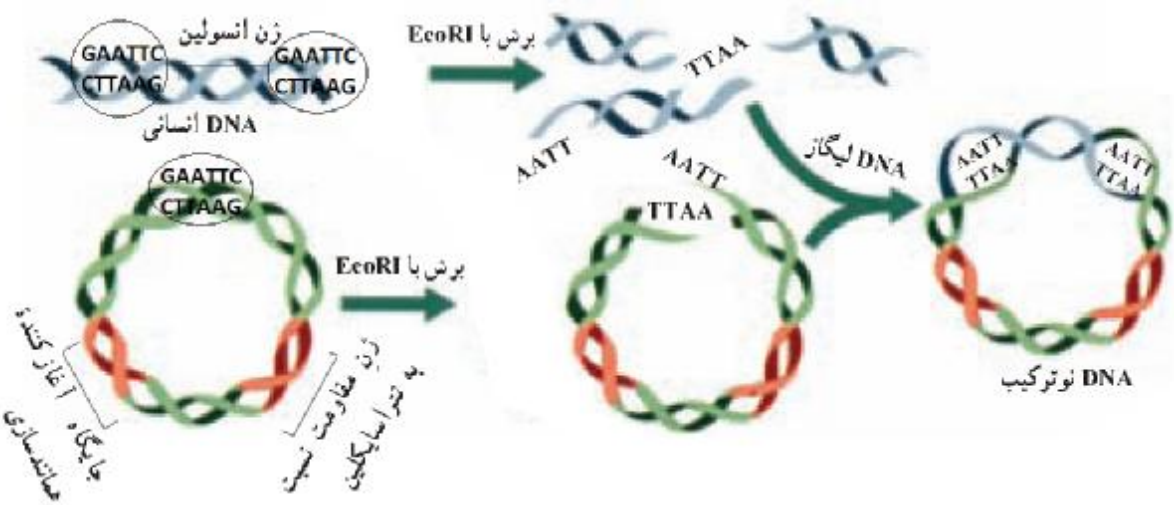
یکی از اصلی‌ترین مراحل در مهندسی ژنتیک ساخت DNAی نوترکیب است. از این رو مهندسی ژنتیک را **فناوری DNA ی نوترکیب** می‌نامند. DNAی نوترکیب، مولکولی است که از DNA دو یا چند فرد مختلف ساخته شده است.

دو سر ژن انسولین در DNAی انسان دارای جایگاه تشخیص برای آنزیم محدود کننده‌ی EcoRI است، بعد از برش دو سر ژن، برای انتقال آن به سلول هدف نیاز به **حامل ژن** یا **وکتور** است. برای این که یک مولکول بتواند به‌عنوان وکتور عمل کند باید دارای ویژگی‌های زیر باشد:

۱- قدرت انتقال به سلول میزبان را داشته باشد.

۲- توانایی همانندسازی مستقل از DNAی سلول میزبان را داشته باشد.

۳- باید دارای جایگاه تشخیص برای همان آنزیم محدود کننده‌ای باشد که دو سر ژن را با آن برش زدیم چرا که دراین حالت است که دو انتهای چسبنده در آن با دو انتهای چسبنده در دو سر ژن مشابه هم می‌شوند و می‌توانند به‌هم بچسبند. به‌عنوان مثال اگر دو سر ژن انسولین را با آنزیم EcoRI برش زدیم باید وکتوری انتخاب کنیم که دارای جایگاه تشخیص برای آنزیم EcoRI باشد.



شکل ۴-۲: ساخت DNA ی نوترکیب با ژن انسولین و وکتور (در این مرحله آنزیم محدود کننده در مجموع ۶ پیوند فسفودی استر و ۲۴ پیوند هیدروژنی می‌شکند و بعد از تشکیل در مجموع ۱۶ پیوند هیدروژنی بین چهار انتهای چسبنده، آنزیم لیگاز ۴ پیوند فسفودی استر بین پلازمید و دو سر ژن انسولین برقرار می‌کند)

از معمول‌ترین وکتورها، **پلازمیدها و ویروس‌ها**یی مثل باکتریوفاژ را می‌توان نام برد.

پلازمیدها: مولکول‌های DNAی حلقوی کوچکی هستند که در بعضی باکتری‌ها وجود دارند. پلازمیدها دارای ژن‌هایی هستند که در کروموزوم اصلی وجود ندارند، از این رو آن‌ها را **کروموزوم‌های کمکی** نیز می‌نامند. به‌عنوان مثال ژن‌های مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها در پلازمیدها وجود دارند. تمام پلازمیدها دارای یک نقطه‌ی شروع همانندسازی هستند و این نشان می‌دهد که این کروموزوم‌های کمکی می‌توانند مستقل از کروموزوم اصلی باکتری همانندسازی کنند و در درون سلول باکتری نسخه‌های متعددی (کلون) از خود ایجاد کنند. پلازمیدها همچنین می‌توانند هماهنگ با کروموزوم اصلی نیز همانند سازی کنند. این کروموزوم‌ها از طریق پیلی قابل انتقال به باکتری‌های دیگرند. ژنی که در مهندسی ژنتیک وارد پلازمید می‌شود، **ژن خارجی** نامیده می‌شود.

باکتریوفاژها: ویروس‌های DNAدار هستند که می‌توانند باکتری‌ها را آلوده کنند و در آن‌ها همانندسازی کنند، از این رو آن‌ها هم می‌توانند به‌عنوان وکتور استفاده شوند. باکتریوفاژها هم می‌توانند مستقل از باکتری یا هماهنگ با تکثیر باکتری همانندسازی کنند (فصل ۹ پیش دانشگاهی).

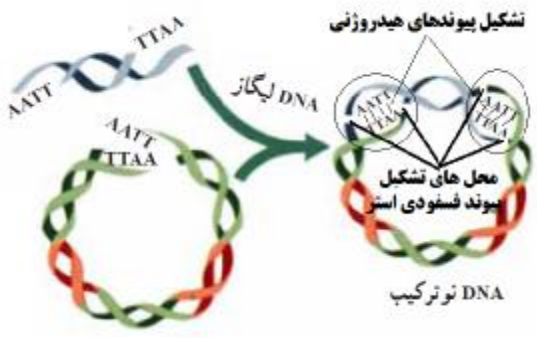
جدول ۱-۲: مقایسه‌ی کروموزوم اصلی و کروموزوم کمکی (پلازمید)

ویژگی	کروموزوم اصلی	پلازمید
اندازه	بزرگ	کوچک
شکل مولکول	حلقوی	حلقوی
جایگاه شروع همانندسازی	یکی	یکی
زمان همانندسازی	هماهنگ با تقسیم باکتری	می‌تواند مستقل باشد
قابل انتقال از راه پیلوس	نیست	است
ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک	ندارد	دارد
باکتری‌ها	همه دارند	بعضی دارند

آنزیم‌های شرکت کننده در ساخت DNA نوترکیب

۱) آنزیم محدودکننده برای برش وکتور و دوسر ژن خارجی
۲) آنزیم لیگاز برای اتصال‌این دو DNA به یکدیگر

پس از برش وکتور و دو سر ژن خارجی، ابتدا دو انتهای چسبنده در آن‌ها از طریق پیوند هیدروژنی **نه پیوند فسفودی استر** به هم می‌چسبند بعد از این چسبندگی دیگر انتهای چسبنده‌ای نخواهیم داشت بلکه دو DNAای خواهیم داشت که به هم وصل نیستند، حال برای این اتصال به آنزیمی نیاز داریم که توانایی تشکیل پیوند فسفودی استر را داشته باشد. **لیگاز** آنزیمی است که موجب برقراری پیوند فسفودی استر می‌شود.



شکل ۵–۲: ساخت DNA ی نوترکیب با پیوندهای هیدروژنی و فسفودی استر

تمرین ۸– برای ساخت DNAی نوترکیب با ژن انسولین، آنزیم لیگاز بین چه نوکلئوتیدهایی پیوند فسفودی استر می‌سازد؟

پاسخ:

بین همان نوکلئوتیدهایی که آنزیم EcoRI برش ایجاد کرد، یعنی نوکلئوتیدهای آدنین‌دار و گوانین‌دار.

مرحله‌ی سوم در مهندسی ژنتیک - کلون کردن ژن

بعد از ساخت DNAی نوترکیب آن را در مجاورت باکتری‌ها قرار می‌دهند تا باکتری‌ها آن را جذب کنند اما فقط تعداد کمی از باکتری‌ها موفق به جذب آن می‌شوند. باکتری‌ها بعد از جذب DNA ی نوترکیب، به کمک دستگاه همانندسازی خود (هلیکاز و DNAپلی‌مراز)، تعداد نسخه‌های یکسان از ژن‌های وکتور و از ژنی که حمل می‌کند، می‌سازد. وقتی از یک ژن نسخه‌های یکسان متعددی ساخته می‌شود، می‌گویند آن ژن کلون شده است.

تمرین ۹– در مرحله‌ی ... در مهندسی ژنتیک، هیچ‌گاه آنزیم ... سبب ... پیوند کووالان نمی‌شود.

۱) برش DNA- محدودکننده- شکستن ۲) کلون کردن ژن- هلیکاز- شکستن
۳) کلون کردن ژن- DNA پلی‌مراز- شکستن ۴) غربال کردن- RNA پلی‌مراز- تشکیل

پاسخ:

آنزیم هلیکاز سبب شکستن پیوندهای هیدروژنی می‌شود درحالی‌که پیوندهای کووالانسی پیوندهایی هستند که از اشتراک بین الکترون‌های دو اتم به وجود می‌آیند (زیست سال دوم فصل اول) پیوند فسفودی استر نوعی پیوند کووالانسی است (زیست سال سوم فصل پنجم) که توسط DNA پلی‌مراز، RNA پلی‌مراز و لیگاز تشکیل ولی توسط آنزیم‌های معرود کننده و همچنین DNA پلی‌مراز در فرآیند ویرایش شکسته می‌شود. (گزینه‌ی ۲)

مرحله‌ی چهارم در مهندسی ژنتیک- غربال کردن

وکتوری که دارای ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین است بعد از ورود به باکتری توسط **آنزیم RNA پلی‌مراز** رونویسی شده و پس از ترجمه پروتئینی ساخته می‌شود که سبب مقاومت باکتری‌ها در محیط کشت دارای آنتی بیوتیک تتراسیکلین می‌گردد. با تزریق تتراسیکلین این باکتری‌ها از باکتری‌های بدون این شاخص غربال می‌شوند. بعد از غربال کردن

باکتری‌ها دو حالت وجود دارد یا باکتری‌ها را برای استخراج ژن‌های کلون شده استفاده می‌کنند و یا اجازه می‌دهند باکتری فراورده‌ی ژن (مثلاً هورمون انسولین) را تولید کند.

استخراج ژن

برای جدا کردن ژن خارجی (ژن انسولین) از DNAی نوترکیب نیاز به همان آنزیم محدودکننده‌ای داریم که در مرحله‌ی برش استفاده شد، یعنی EcoRI . بعد از برش DNAی نوترکیب (شکسته شدن ۴ پیوند فسفودی استر)، دو قطعه خواهیم داشت یکی قطعه‌ی انسولینی و دیگری قطعه‌ی وکتوری، برای تفکیک این دو، از ژل الکتروفورز استفاده می‌کنیم.

تمرین ۱۰- در مرحله‌ی استخراج ژن انسولین از DNAی نوترکیب در مجموع ... پیوند فسفودی استر بین نوکلئوتیدهای آدنین‌دار و ... توسط آنزیم EcoRI شکسته می‌شود.

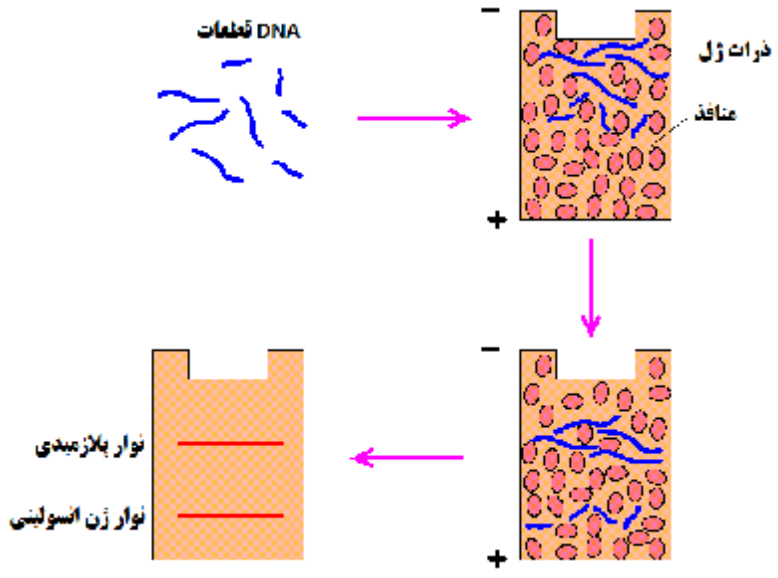
۱) چهار- گوانین‌دار ۲) دو- گوانین‌دار ۳) چهار- سیتوزین‌دار ۴) دو- سیتوزین‌دار

پاسخ :

DNAهای نوترکیب دارای دو جایگاه برش برای آنزیم EcoRI هستند لذا در مجموع چهار پیوند فسفودی استر را بین نوکلئوتیدهای آدنین‌دار و گوانین‌دار می‌شکنند. (گزینه‌ی ۱)

ژل الکتروفورز

ژل، ورقه‌ای مستطیلی شکل ژلاتینی است که در آن منافذ ریز بسیاری وجود دارد. یک میدان الکتریکی از درون ژل می‌گذرد. اساس ژل الکتروفورز برپایه یک میدان الکتریکی استوار است و برای جدا سازی مولکول‌های دارای بارهای الکتریکی (پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک) کاربرد دارد. در ژل الکتروفورز مولکول‌ها بر اساس اندازه و بار الکتریکی از هم جدا می‌شوند و در صورتی که مولکول‌ها دارای یک نوع بار الکتریکی باشند (به‌عنوان مثال قطعات DNA همگی دارای بار منفی‌اند) **بر اساس اندازه جدا** می‌شوند و همیشه سرعت مولکول‌های کوچکتر (قطعه انسولینی) سریع‌تر از مولکول‌های بزرگ‌تر (قطعه وکتوری) بوده و زودتر به قطب مخالف (قطب مثبت) خود می‌رسند. به‌عنوان مثال قطعه‌ی اسیدنوکلئیک که دارای تعداد پیوند فسفودی استر کم‌تری نسبت به قطعه‌ی اسیدنوکلئیک که دارای تعداد پیوند فسفودی استر بیش‌تر است سریع تر به قطب مثبت ژل می‌رسد.



شکل ۶-۲: جداسازی قطعات DNA براساس اندازه (قطعات کوچک تر سریع تر به قطب مثبت می‌رسند)

پروتئین‌ها نیز در ژل الکتروفورز از هم تفکیک می‌شوند ولی چون از نظر بار الکتریکی باهم تفاوت دارند، ابتدا توسط مواد خاصی دارای بار منفی شده و سپس بر اساس اندازه از هم جدا می‌شوند.

جدول ۲-۲: کاربرد آنزیم ها و اثر هر یک از آن‌ها در چهار مرحله‌ی اساسی مهندسی ژنتیک

مراحل	آنزیم	اثر روی پیوند فسفودی استر	اثر روی پیوند هیدروژنی
۱- برش DNA	محدود کننده	شکستن	شکستن
۲- تولید DNA نوترکیب	لیگاز	تشکیل	تشکیل بدون دخالت لیگاز
۳- کلون شدن ژن	DNA پلی‌مراز و هلیکاز	تشکیل- شکسته شدن در ویرایش	شکستن- تشکیل پیوندهای هیدروژنی وابسته به آنزیم نیست.
۴- غربال کردن	RNA پلی‌مراز	ساختن	شکستن- تشکیل پیوندهای هیدروژنی وابسته به آنزیم نیست.

☑ **نکته ۲-۲: در مهندسی ژنتیک برای ساخت DNAی نوترکیب فقط از آنزیم‌های محدودکننده و لیگاز استفاده می‌شود. اما در مرحله‌ی کلون شدن از آنزیم‌های DNA پلی‌مراز و هلیکاز استفاده می‌کنند. این آنزیم‌ها در خودِ سلول میزبان یافت می‌شود و نیازی نیست به محیط اضافه شود. در مهندسی ژنتیک برای تولید فرآورده‌ی ژن به آنزیم RNA پلی‌مراز نیاز است که این آنزیم نیز در سلول میزبان وجود دارد و نیازی نیست به محیط اضافه شود.**

تمرین ۱۱- در الکتروفورز پروتئین‌های با بارهای الکتریکی مختلف از ماده‌ای به نام SDS (سدیم دو دسیل سولفات) استفاده می‌شود تا بار الکتریکی همه‌ی آن‌ها منفی شود، اگر سه زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی با تعداد آمینواسید مختلف الکتروفورز شوند، دراین‌صورت ...

۱) هر سه زنجیره با یک سرعت درون ژل حرکت می‌کنند.
۲) هر سه زنجیره با گذشت زمان از قطب مثبت دور می‌شوند.
۳) بعد از مدتی سه زنجیره سبب تشکیل یک نوار روی ژل می‌شوند.
۴) زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی کوچک‌تر سریع‌تر به قطب مثبت می‌رسد.

پاسخ :

وقتی زنجیره‌های پلی‌پپتیدی توسط ماده‌ی SDS همگی دارای بار منفی شده‌اند پس به سمت قطب مثبت می‌روند و از طرفی به دلیل هم اندازه نبودن، سه نوار بر روی ژل ایجاد می‌شود و زنجیره‌ی کوچک‌تر به قطب مثبت نزدیک‌تر است. ***(گزینه‌ی ۴)***

تمرین ۱۲- از تفکیک مولکول‌ها به کمک الکتروفورز در ژل، می‌توان نتیجه گرفت ...

۱) پروتئین‌هایی که از منافذ ژل در حال عبوراند نمی‌توانند از نظر نوع بار الکتریکی با یکدیگر متفاوت باشند.
۲) DNAای که جلوتر از بقیه حرکت می‌کند کوچک‌تر بوده و سریع‌تر به چاهک‌های ژل وارد می‌شود.
۳) نوارهایی که به قطب مخالف بار الکتریکی مولکول نزدیک‌تراند دارای مولکول‌های بزرگ‌تر می‌باشند.
۴) بعد از اتمام الکتروفورز، تعداد نوارهای ایجاد شده در ژل رابطه‌ی عکس با تعداد انواع مولکول‌ها دارند.

پاسخ :

در ژل الکتروفورز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک براساس اندازه از یکدیگر جدا می‌شوند و مولکولی که سریع‌تر حرکت می‌کند، کوچک‌تر است. دقت کنید اساس ژل الکتروفورز بر اساس بار الکتریکی مولکول و اندازه می‌باشد ولی بار الکتریکی نمی‌تواند عامل تفکیک پروتئین‌ها باشد چون همگی آن‌ها از نظر بار الکتریکی یک‌سان می‌شوند و این اختلاف سرعت به دلیل اختلاف در اندازه مولکول است. ***(گزینه‌ی ۱)***

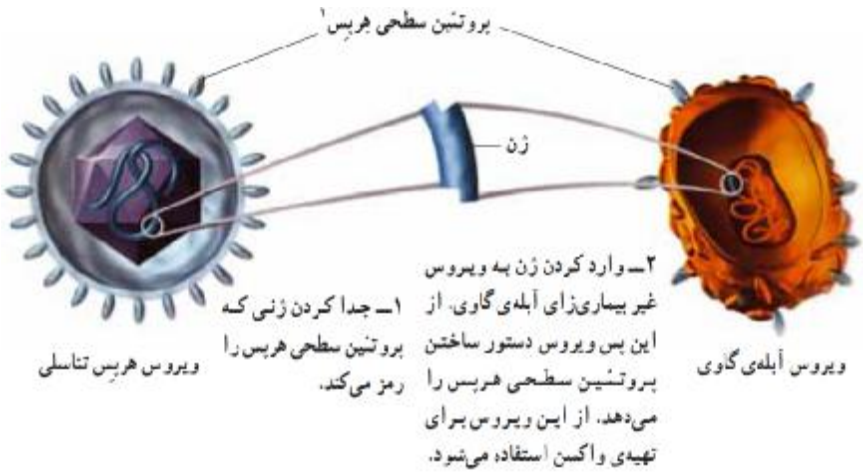
کاربرد مهندسی ژنتیک در پزشکی

۱- تولید داروهای نوترکیب: بسیاری از نارسایی‌های انسانی در اثر فقدان یا نقص پروتئین‌هایی است که در حالت طبیعی در بدن ساخته می‌شوند. بسیاری از این نارسایی‌ها با فراهم کردن نسخه‌ی صحیح آن پروتئین برای بیماری قابل درمان است. به‌عنوان مثال ساخت انسولین از طریق مهندسی ژنتیک در باکتری‌ها و یا تولید فاکتور انعقادی شماره‌ی VIII، که فقدان آن موجب بیماری هموفیلی می‌شود. همچنین از طریق تکنولوژی ژن در باکتری‌ها پروتئین‌های ضد انعقاد خون می‌توان ساخت تا جلوی برخی از سکته‌های ناشی از لخته شدن خون را گرفت. ساخت پروتئین‌های مکمل، اینترفرون، اریتروپویتین از موارد دیگر است.

☑ **نکته۳-۲: در روند انعقاد خون ترومبوپلاستین ترشح شده از سلول‌های آسیب دیده‌ی جدار رگ‌ها و پلاکت‌ها به همراه کلسیم و فاکتورهای انعقادی سبب شکسته شدن پروترومبین به ترومبین می‌شوند. ترومبین نیز سبب تبدیل فیبرینوژن‌های محلول به رشته‌های فیبرین می‌شوند. در بیماران هموفیلی به دلیل نقص در تولید رشته‌های فیبرین، انعقاد خون صورت نمی‌گیرد.**

۲- واکسن‌های نوترکیب

در گذشته واکسن را از طریق کشتن میکروب یا ضعیف کردن سم آن تولید می‌کردند، اِشکال این روش در این بود که بعضی مواقع خودِ واکسن تزریق شده موجب بیماری می‌شد اما در روش مهندسی ژنتیک این مشکل حل شده است. در این روش از یک ویروس غیر بیماری‌زا (مثل ویروس آبله‌ی گاوی) استفاده می‌کنند و با قرار دادن ژن پروتئین سطحی یک ویروس بیماری‌زا (مثل هرپس تناسلی) در DNA آن می‌توان موجب تغییر شکل آنتی‌ژن‌های سطحی ویروس شد، حالا ویروس آبله‌ی گاوی تغییر شکل یافته به‌عنوان وکتور عمل کرده و به بدن انسان تزریق می‌شود تا لنفوسیت‌ها تحریک شوند و ایمنی فعال ایجاد کنند. توجه داشته باشید ویروس حامل ژن خارجی، غیربیماری‌زا است و موجب بیماری نمی‌شود ولی آنتی ژن‌های ویروس بیماری‌زا را در سطح خود دارد.



شکل ۷-۲: مراحل ساخت واکسن هرپس تناسلی. ابتدا DNAی هر دو ویروس از غشای لیپیدی- پروتئینی و همچنین کپسید پروتئینی خارج می‌شوند سپس به کمک یک آنزیم محدودکننده دو سر ژن پروتئین سطحی ویروس برش داده می‌شود و با همان آنزیم محدود کننده DNA ویروس آبله گاوی را برش می‌دهند پس از چسبیدن دو انتهای چسبنده به کمک آنزیم لیگاز DNAی نوترکیبی ساخته می‌شود این DNAی نوترکیب به بدن گاو تزریق می‌گردد تا ویروس‌های جدید به صورت واکسن تولید شوند.

☑ **نکته ۴-۲:** **ویروس‌ها ریبوزوم ندارند و برای ساخت پروتئین‌ها از ریبوزوم سلول میزبان استفاده می‌کنند.**

☑ **نکته ۵-۲ : واکسن اغلب برای بیماری‌هایی که فاقد داروهای درمانی باشند ساخته می‌شود تا یک نوع پیشگیری ایجاد شود مثلاً برای بسیاری از بیماری‌های ویروسی مثل فلج اطفال و آبله که با داروهای موجود درمان نمی‌شوند. مالاریا بیماری است که یک آغازی تک سلولی یوکاریوت عامل آن بوده و معمولاً در برابر آن حفاظت موثری وجود ندارد. امروزه تلاش می‌شود تا واکسنی برای این بیماری تولید شود. برای پیشگیری از بیماری مالاریا نیاز به سه نوع واکسن برای مراحل اسپوروزوئیتی، مروزوئیتی و گامتوسیتی است (فصل ۱۰ زیست پیش دانشگاهی). امروزه با ساخت واکسن ضد ویروس هپاتیت B از التهاب کبد (اندام سازنده‌ی پروتئین مکمل، صفرا، اریتروپوپتین و ...) توسط این ویروس پیشگیری شده است.**

تمرین ۱۳- در ارتباط با واکسن نوترکیب هرپس تناسلی صحیح یا غلط بودن هر یک از جملات زیر را مشخص کنید:

الف- از یک نوع آنزیم محدودکننده برای برش DNAی هر دو ویروس هرپس تناسلی و آبله‌ی گاوی استفاده شد.

ب- پروتئین سطحی ویروس هرپس تناسلی بر روی کپسید ویروس آبله گاوی ساخته شد.

ج- برای جدا کردن ژن پروتئین سطحی ویروس هرپس تناسلی علاوه بر پیوند فسفودی استر، پیوند هیدروژنی نیز شکسته شد.

پاسخ :

الف- صحیح است. چون انتهای چسبنده‌ی دو DNA باید شبیه هم باشند.

ب- نادرست است. بر روی پوشش ویروس آبله گاوی ساخته شد.

ج- صحیح است. با توجه به شکل ۷-۲ در دو سر خود دارای انتهای چسبنده است که نشان دهنده‌ی شکسته شدن پیوند هیدروژنی است.

۳- ژن درمانی

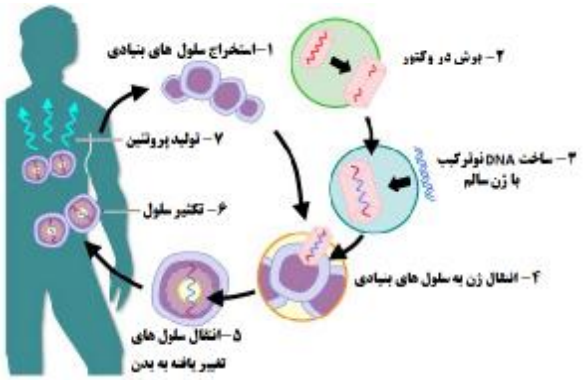
بسیاری از ناهنجاری‌های ژنتیکی زمانی ایجاد می‌شوند که فرد نسخه‌ی فعال یک ژن خاص را نداشته باشد. در ژن درمانی نسخه‌ی سالم یک ژن را در کنار ژن معیوب سلول‌های ناتوان قرار می‌دهند. در این روش معمولاً از سلول‌هایی استفاده می‌شود که بتوان آن‌ها را از بدن خارج نمود و پس از دستکاری مجدداً به مکان‌شان در بدن بازگردانید. اولین ژن درمانی در یک دختر بچه و در ارتباط با ژن معیوبی بود که در تولید **یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی** نقص داشت. مراحل کار در اولین ژن درمانی به صورت زیر بود:

۱) به کمک آنزیم محدودکننده، دو سر ژن سازنده‌ی یک آنزیم دستگاه ایمنی را در یک کروموزوم سالم برش می‌زنند.

۲) با همان آنزیم محدودکننده، وکتور را برش می‌زنند و سپس به کمک آنزیم لیگاز، DNAی نوترکیب می‌سازند.

۳) از بدن دختربچه سلول‌های بنیادی مغز استخوان را استخراج می‌کنند و بدون اینکه ژن معیوب این سلول‌ها را خارج کنند، DNAی نوترکیب را به آن‌ها وارد می‌کنند.

۴) سلول‌های تراژنی شده به بدن بازگردانده می‌شوند و این سلول‌ها بلافاصله این آنزیم را تولید می‌کنند. همچنین از تقسیم این سلول‌ها، سلول‌های تراژنی تولید می‌شود.



شکل ۸–۲: مراحل ژن درمانی

تمرین۱۴- کدام عبارت نادرست است؟ «اولین سلول مورد استفاده در ژن درمانی، ... »

۱) دو کروموزوم X داشت.
۲) دارای نقص در ژن یک آنزیم بود.
۳) قدرت تقسیم داشت.
۴) در بدن بیمار، تراژنی شد.

پاسخ :

اولین سلول مورد استفاده در ژن درمانی در خارج از بدن بیمار دست‌ورزی شد. این سلول برای دختر بچه بوده لذا دو کروموزوم X داشت و در یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی دچار نقص ژنی بود. این سلول پس از بازگشت به بدن تقسیم شد. ***(پاسخ: گزینه‌ی۴)***

تمرین۱۵– اولین ژن درمانی در انسان در سلولی صورت گرفت که ...

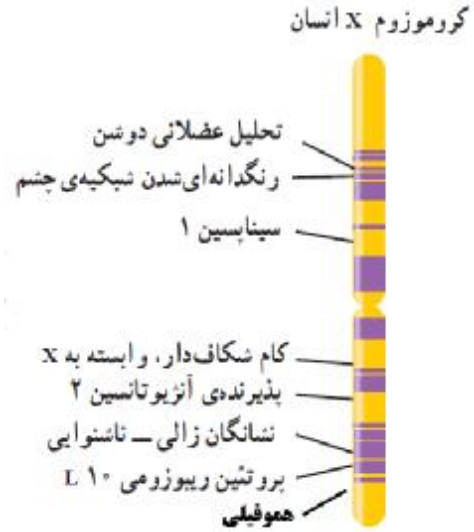
۱) برای پذیرنده‌ی آنژیوتانسین II دو نسخه‌ی ژنی داشت.
۲) دچار نقص ژنی در ژن رمز کننده‌ی یک پروتئین مهم دفاعی بدن بود.
۳) از بافت پیوندی استخراج شد که ماده‌ی زمینه‌ای آن دارای پروتئین‌های فیبرینوژن بود.
۴) فاقد ژن رمز کننده برای ساخت پروتئین هموگلوبین بود.

پاسخ :

اولین ژن درمانی در ارتباط با یکی از پروتئین‌های آنزیمی دختر بچه‌ای بوده است. سلولی که مورد استفاده قرار گرفت دارای دو کروموزوم X بود. پس برای ژن‌های وابسته به X مثل پذیرنده آنژیوتانسین II دو نسخه ژنی داشت. در این روش از سلول‌های مغز استفوان استفاده شد و همانطور که می‌دانیم سلول‌های هسته‌دار بدن انسان همه‌ی ژن‌ها مثل ژن هموگلوبین را نیز دارد. ***(پاسخ: گزینه‌ی ۱)***

نقشه‌ی ژنی انسان

به محتوای ژنی DNAی هسته‌ای و DNAی سیتوپلاسمی(میتوکندری و کلروپلاست) در یک جاندار، **ژنوم** گفته می‌شود، ژنوم هسته‌ای انسان در بین ۲۴ نوع کروموزوم (۲۲ نوع اتوزوم و دو کروموزوم جنسی X و Y) توزیع شده است. امروزه به کمک مهندسی ژنتیک توالی و جایگاه **همه‌ی** ژن‌های انسان مورد مطالعه قرار گرفت و جایگاه **بسیاری** از آن‌ها مشخص شده است. در مهندسی ژنتیک هدف پروژه‌ی ژنوم انسان (HGP) تعیین توالی نوکلئوتیدی ژنوم انسان و تعیین نقشه‌ی جایگاه هر ژن روی هر کروموزوم است. با این روش می‌توان **بسیاری از** ناهنجاری‌های ژنی مثل سیستیک فیبروزیز، دیستروفی عضلانی دوشن و سرطان‌ها را شناسایی کرد.



شکل ۹–۲ – نقشه‌ی کروموزوم. پروژه‌ی ژنوم انسان جایگاه بسیاری از ژن‌ها را مشخص کرده است با وجود این که بیش از ۴۵۰ ژن و ۲۰۰ ناهنجاری ژنتیکی روی کروموزوم x وجود دارند فقط تعداد کمی از آن‌ها در این شکل نشان داده شده است. (توارث این ژن از قانون دوم مندل تبعیت نمی‌کند.)

تمرین ۱۶– انواع DNA حاوی ژنوم هسته‌ای .....، ..... برابر با انواع DNA حاوی ژنوم کل سلول ..... است.

۱) شامپانزه- دو- ملخ ۲) انسان- چهار- مگس سرکه ۳)سگ- سه- شامپانزه ۴)انسان- دو- ملخ

جاندار	انواع DNA هسته ای	انواع DNA سیتوپلاسمی	کل ژنوم
شامپانزه	۲۵	۱	۲۶
ملخ	۱۲	۱	۱۳
مگس سرکه	۵	۱	۶
سگ	۴۰	۱	۴۱
انسان	۲۴	۱	۲۵

پاسخ : *گزینه‌ی ۲*

تمرین ۱۷– هر سلولی که در یونجه کامل‌ترین ژنوم را دارد، نمی‌تواند .....

۱) اکسیژن آزاد کند. ۲) اکسیژن مصرف کند.
۳) فاقد واکوئل باشد. ۴) فاقد سانتریول باشد.

پاسخ :

در یک یونجه سلول‌هایی که دارای کامل‌ترین ژنوم‌اند باید دارای هسته، میتوکندری و کلروپلاست باشند چون DNA در این سه اندامک وجود دارد، سلول‌های کلرانشیم، نگهبان روزنه، غلاف آوندی و بعضی از کلانشیم‌ها این سه اندامک را دارند. این سلول‌ها نمی‌توانند فاقد واکوئل باشند.

(گزینه‌ی ۳)

تمرین ۱۸– به طور معمول ژن ... قطعاً در همه‌ی ... یک انسان سالم وجود دارد.

۱) پروتئین ریبوزومی L۱۰- اسپرم‌های ۲) فاکتور انعقادی VIII- تخمک‌های
۳) فاکتور انعقادی VIII- اسپرم‌های ۴) بیماری‌زای تحلیل عضلانی دوشن- تخمک‌های

پاسخ :

ژن پروتئین ریبوزومی L_{11}، فاکتور انعقادی شماره VIII و بیماری زای تحلیل عضلانی دوشن روی کروموزوم X قرار دارند. از آنجایی‌که همه‌ی اسپرم‌ها کروموزوم X ندارند، بنابراین گزینه او ۳ نادرست اند. در زنان سالم همه‌ی تفمک‌ها ژن فاکتور انعقادی VIII را دارند اما ژن بیماری‌زای تحلیل عضلانی دوشن را ندارند. ***(پاسخ: گزینه‌ی ۲)***

کاربرد مهندسی ژنتیک در گیاهان :

مهندسان ژنتیک به روش‌های مختلف، گیاهان را تغییر می‌دهند، به‌عنوان مثال

۱) ساخت گیاهان مقاوم به فشارهای محیطی (خشکی، خاک‌های شور ...)

۲) تغییر در بیان ژن مربوط به ساخت هورمون اتیلن به منظور تنظیم رسیدن میوه‌ها

۳) ساخت گیاهانی با ارزش غذایی بالا، مثل ساخت سویه‌هایی از برنج که حاوی بتاکاروتن و آهن می‌باشند. بتاکاروتن پیش ساز یک نوع ویتامین محلول در چربی به نام ویتامینA است.

۴) ساخت گیاهانی مقاوم به علف‌کش‌هایی که زود در طبیعت تجزیه می‌شوند. با ساخت این گیاهان دیگر برای از بین بردن علف‌های هرز نیاز به شخم زدن خاک نیست تا خاک‌های سطحی دچار دستخوش تغییر شوند.

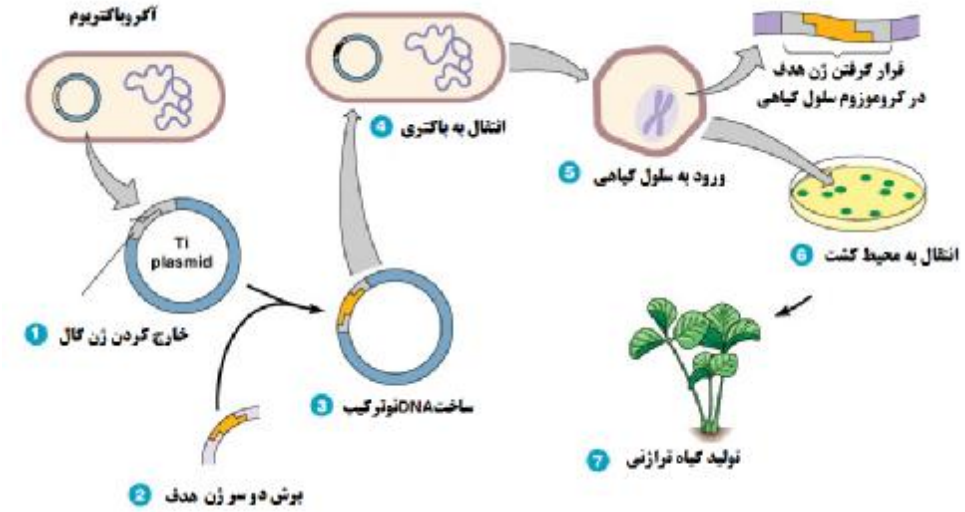
۵) ساخت گیاهان مقاوم به حشره‌ها با وارد کردن **یک ژن** ، به محصولات گیاهی.

پلازمید باکتریایی *Ti* به‌عنوان یک وکتور گیاهی

Ti (القا کننده‌ی ایجاد تومور) یک **پلازمید باکتریایی** است که به‌عنوان یک وکتور در **گیاهان** استفاده می‌شود. این پلازمید سبب بیماری گال (تومورهای بزرگ) در بسیاری از گیاهان زراعی مثل گوجه فرنگی، توتون و سویا می‌شود.

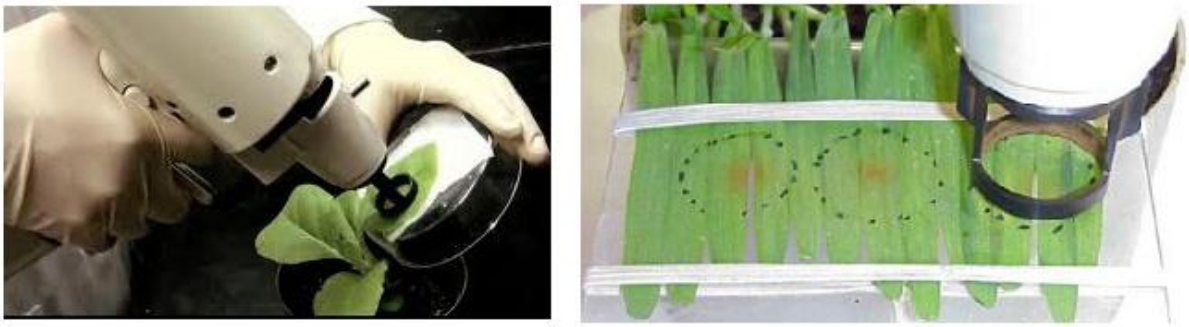
دانشمندان برای انتقال ژن به سلول گیاهی از دو طریق اقدام می‌کنند:

۱- انتقال به کمک پلازمید Ti، دراین روش ابتدا به کمک آنزیم‌های محدودکننده ژن گال را از پلازمید Ti خارج می‌کنند (چهار پیوند فسفودی استر در این عمل شکسته می‌شود) سپس ژن مورد نظر جایگزین ژن گال می‌گردد. برای این اتصال از آنزیم لیگاز استفاده می‌کنند.



شکل ۱۰-۲: مراحل ساخت گیاه تراژنی به کمک پلازمیدTi

۲- روش دوم اصلاح گیاهان به کمک مهندسی ژنتیک، انتقال مستقیم ژن به کمک تفنگ ژنی است. به‌عنوان مثال دراین روش هزاران قطعات ژنی به سلول‌های گیاه گندم شلیک می‌شود و این ژن‌ها می‌توانند به ژنوم گیاه وارد شوند.



شکل ۱۱-۲: ساخت گیاه تراژنی به کمک تفنگ ژنی

تمرین۱۹- برای ساخت DNAی نوترکیب از پلازمید Ti و یک ژن خارجی برش داده شده، .....

۱) تعداد پیوندهای هیدروژنی شکسته شده دو برابر پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده است.
۲) نیاز به تفنگ ژنی برای وارد کردن ژن خارجی به درون پلازمید Ti است.
۳) ابتدا باید به کمک آنزیم‌های محدودکننده و لیگاز در پلازمید Ti برش‌ایجاد کرد.
۴) مجموع پیوندهای فسفودی استر شکسته و تشکیل شده برابر با ۸ است.

پاسخ :

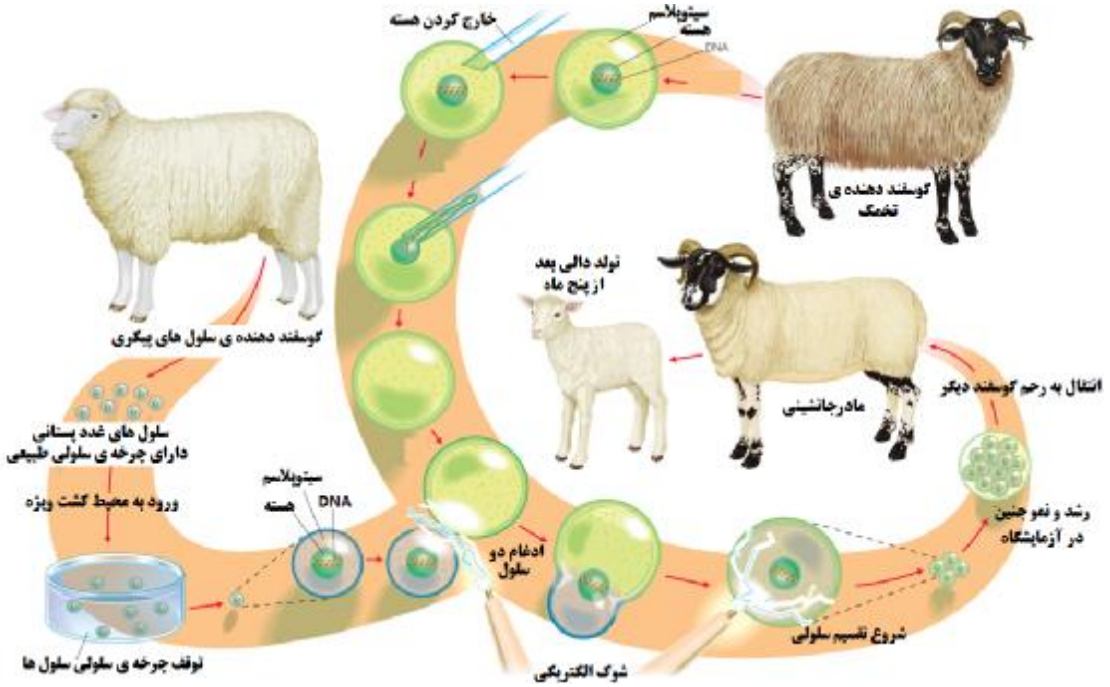
*برای ساخت DNAی نوترکیب از پلازمید Ti و یک ژن خارجی، ابتدا نیاز است تا ژن کال از پلازمید Ti خارج شود بنابراین دو سر ژن برش می‌خورد که نتیجه آن شکسته شدن ۴ پیوند فسفودی استر است. از طرفی وقتی ژن خارجی به آن وارد شود ۴ پیوند فسفودی استر در دو سر ژن خارجی تشکیل می گردد دقت کنید تعداد پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده یا شکسته شده در این روش برای پلازمید Ti برابر خواهد بود. (**پاسخ: گزینه‌ی ۴**)*

تکنولوژی ژن در دامداری

امروزه به کمک مهندسی ژنتیک با ساخت هورمون رشد گاوی از طریق **تکنولوژی ژن در باکتری‌ها** میزان تولید شیر در دام‌ها افزایش یافته است. یکی دیگر از کاربردهای مهندسی ژنتیک در دامداری به جای تکنولوژی ژن در باکتری‌ها، ساخت پروتئین‌های پیچیده‌ی انسانی است. چون باکتری‌ها نمی‌توانند mRNA ی اولیه را به mRNA ی بالغ تبدیل نمایند و رونوشت‌های اینترون را از رونوشت‌های اگزون جدا سازند و همچنین به دلیل فقدان شبکه‌ی آندوپلاسمی زبر در آنها این جانداران توانایی تولید پروتئین‌های پیچیده‌ی انسانی را ندارند، امروزه ژن این پروتئین‌ها را به دام منتقل می‌کنند و با ساخت دام‌های تراژنی (جانوری که در سلول‌های خود دارای DNAی بیگانه است) می‌توانند پروتئین‌های پیچیده‌ی انسانی را در شیر تولید کنند.

کلون کردن از سلول‌های تخصص یافته

در سابق فرض بر این بود که کلون کردن فقط به وسیله‌ی سلول‌های جنینی یا نوزادی ممکن است ولی یان ویلموت با استفاده از یک سلول تمایزیافته‌ی پیکری، گوسفندی به نام دالی را شبیه سازی کرد. مراحل مختلف کلون شدن گوسفند دالی در شکل ۱۲-۲ نشان داده شده است. گوسفند دالی به دلیل بیماری پیشرفته‌ی ریوی کشته شد.



شکل ۱۲-۲: مراحل کلون شدن گوسفند دالی. ابتدا از یک گوسفند سلول تمایزیافته پستانی را استخراج و در محیط کشت ویژه قرار دادند تا چرخه ی سلولی آن متوقف شود سپس از گوسفند دیگر تخمکی گرفتند و هسته‌ی آن را خارج کردند. این دو سلول از طریق شوک الکتریکی با هم ادغام شدند و سلول ادغام شده به محیط کشت آزمایشگاهی انتقال داده شد تا پس از تمایززدایی تقسیمات اولیه در آزمایشگاه صورت گیرد. سلول‌های جنینی پس از تمایز مجدد و رشد و نمو به جنین اولیه تبدیل و سپس جنین آزمایشگاهی در رحم مادرجانشینی (گوسفند دیگر) قرارداده شد. بعد از پنج ماه دالی متولد شد. ژنوم هسته‌ای گوسفند دالی مشابه گوسفند دهنده ی سلول سوماتیک است ولی ژنوم سیتوپلاسمی آن بین دو گوسفند دهنده ی سلول سوماتیک و تخمک مشترک است.

تمرین ۲۰- دالی از چند مورد زیر بافت دریافت کند، در بدنش پاسخ ایمنی رخ خواهد داد؟

الف- گوسفند دهنده‌ی سلول پستانی
ب- گوسفند دهنده‌ی تخمک
ج- مادر جانشینی

۱) ۱ ۲) ۲ ۳) ۳ ۴) ۰

پاسخ :

چون گوسفند دالی از نظر ژنی مشابه گوسفند دهنده‌ی سلول پستانی است بنابراین وقتی از این گوسفند بافت دریافت کند در بدنش پاسخ ایمنی رخ نخواهد داد ولی از بقیه‌ی گوسفندان بافت بگیرد به دلیل تفاوت ژنتیکی و داشتن آنتی ژن سطحی متفاوت، دستگاه ایمنی پیوند بافت را پس خواهد زد.
(گزینه‌ی ۲)

آزمون

✓ **۱- اگر به کروموزوم‌های کمکی یک باکتری، دو ژن بیگانه در دو محل جداگانه متصل کنند، برای تشکیل ایـن DNAی نوترکیب، جمعاً چند پیوند فسفودی استر دراین کروموزوم تخریب و تشکیل شده است؟**(سراسری ۸۹ خارج)

۱)۶ ۲)۸ ۳)۱۲ ۴)۱۶

✓ **۲ - در کروموزوم اصلی باکتری همواره تعداد ..... با تعداد ..... برابر است.**

۱) جایگاه آغاز رونویسی- جایگاه شروع همانندسازی ۲) راه‌انداز- ژن‌ها
۳) جایگاه پایان رونویسی- راه‌انداز ۴) جایگاه آغاز رونویسی- ژن‌ها

✓ **۳- باکتریوفاژها ..... پلازمیدها ..... (سراسری ۹۱ خارج)**

۱) همانند-فاقد ژن مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها هستند.

۲) همانند- می‌توانند مستقل از کروموزوم اصلی میزبان همانندسازی نمایند.

۳) برخلاف- برای کلون کردن DNA در باکتری‌ها استفاده می‌شوند.

۴)برخلاف- توسط آنزیم‌های محدود کننده برش داده می‌شوند.

✓ **۴- با در نظر گرفتن ژنوم باکتری‌ها و انواع جهش‌های کروموزومی زیر، چند مورد برای باکتری‌ها امکان‌پذیر است؟**

الف- مضاعف شدن ب- واژگونی ج- جابه‌جایی د- حذف

۱) ۱ ۲) ۲ ۳) ۳ ۴) ۴

✓ **۵- چند مورد صحیح است؟**

الف- در باکتری‌ها هر DNAای که مستقل از کروموزوم اصلی همانند سازی کند، پلازمید است.

ب- همه‌ی اپران‌های موجود در یک سلول فقط توسط یک نوع RNA پلی‌مراز رونویسی می‌شوند.

ج- هر آنزیم محدود کننده قطعاً در جایگاه تشخیص خود پیوندهای فسفودی استر را می‌شکند.

د- در مهندسی ژنتیک، محصول ژن بیگانه در هر سلول تراژنی، تشکیل پروتئین‌های بیگانه است.

۱) ۱ ۲) ۲ ۳) ۳ ۴) ۴

✓ **۶-در ساخت DNA نوترکیب برای اتصال دو انتهای چسبنده حداقل چند پیوند هیدروژنی و چند پیوند فسفودی استر تشکیل می‌شود؟**

۱) ۲-۰ ۲) ۴-۰ ۳) ۲-۲ ۴) ۴-۲

✓ **۷- کروموزوم کمکی ..... کروموزوم اصلی، .....**

۱) همانند- دارای یک جایگاه شروع رونویسی است.

۲) برخلاف- دارای رشته‌های پلی نوکلئوتیدی قطبی است.

۳) همانند- درصورتِ تقسیم دوتایی باکتری، همانندسازی می‌کند.

۴) برخلاف- دارای ژن‌های تولید آنتی بیوتیک است.

✓ **۸- در چند مرحله از مراحل اساسی زیر در مهندسی ژنتیک، پیوندهای هیدروژنی DNA شکسته و در چند مرحله تشکیل می‌شود؟**

الف- برش DNA ب- تولید DNA نوترکیب

ج- کلون شدن ژن د- غربال کردن

۱) ۱-۱ ۲) ۲-۲ ۳) ۲-۳ ۴) ۳-۳

✓ **۹- حداکثر در چند مورد از مراحل کارهای مهندسی ژنتیک پیوند فسفودی استر می‌توانند شکسته شود؟**

الف- برش DNA ب- ساخت DNA نوترکیب

ج- کلون کردن د- غربال کردن

۱) ۱ ۲) ۲ ۳) ۳ ۴) ۴

✓ **۱۰- کدام عبارت نادرست است ؟ «در ژل الکتروفورز .....»**

۱) مولکول‌ها باید حتماً دارای بار الکتریکی باشند.

۲) مولکول‌های درون هر نوار، هم اندازه هستند.

۳) مولکول‌ها باید حتماً دارای پیوند فسفودی استر باشند.

۴) مولکول‌ها درون هر نوار، دارای بار الکتریکی مشابه اند.

✓ **۱۱- در آزمایش کوهن و بایر، واحد سازنده‌ی ساختاری که از قورباغه به باکتری منتقل شد، را می‌توان در ساختار ..... یافت.**

۱) افزاینده ۲) RNA پلی‌مراز
۳) ریبوزوم ۴) tRNA

✓ **۱۲- دو DNA خطی و حلقوی مفروض‌اند، اگر هریک برای آنزیم EcoRI، سه محل برش داشته باشند پس از برش و الکتروفورز قطعات، حداقل و حداکثر چند نوار بر روی ژل حاصل می‌شود؟**

۱) ۶-۱ ۲) ۶-۲ ۳) ۷-۲ ۴) ۷-۱

✓ **۱۳- هرپلازمید ژن‌هایی دارد که در سلول‌های میزبان .....**

۱) همواره بدون نیاز به عوامل رونویسی، رونویسی می‌شوند. ۲) ژن‌های مشابه ی آن وجود دارد.
۳) تنها با کمک دستگاه همانندسازی، تکثیر می‌شوند. ۴) آن‌ها را به کروموزوم اصلی منتقل می‌کند.

✓ **۱۴- اولین ژن درمانی با ..... همراه بوده است.**

۱) انتقال ژن بیگانه از سلول تراژنی به نسل‌های بعدی سلول‌ها
۲) ورود ژن سازنده‌ی یک نوع پروتئین دفاعی به نوعی از سلول‌های استخوانی
۳) خروج نوعی از سلول‌های استخوانی از بدن و ترمیم ژن معیوب آن
۴) خروج ژن یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی از بدن و ورود یک ژن سالم به جای آن

✓ **۱۵- ویروس هرپس تناسلی..... ویروس آبله‌ی گاوی ..... دارد.**

۱) همانند- یک DNAی خطی
۲) برخلاف- یک DNAی خطی
۳) همانند- اطراف DNAی خود یک پوشش
۴) برخلاف- اطراف DNAی خود دو پوشش

✓ **۱۶- عامل بیماری ..... می‌تواند ..... داشته باشد.**

۱) مالاریا-mRNA چند ژنی ۲)گال- همانندسازی مستقل در سلول
۳) هپاتیت B- آنزیم محدودکننده ۴)آبله گاوی – ریبوزوم کوچک و ساده

✓ **۱۷- اندام آسیب دیده توسط ویروس هپاتیت B در تولید همه‌ی موارد زیر کاربرد دارد به جز.....**

۱) صفرا ۲) پروتئین مکمل ۳) اریتروپویتین ۴) انسولین

✓ **۱۸- کدام عبارت، بخشی از مراحل تشکیل گوسفند دالی را بدرستی بیان می کند؟** (سراسری ۸۷ خارج)

۱) ادغام هسته‌های دو سلول با شوک الکتریکی
۲) حذف هسته از سلول‌های تمایز یافته‌ی پیکری
۳) آغاز تقسیمات متوالی تخم، در رحم مادر جانشینی
۴) توقف چرخه‌ی سلولی در سلول‌های تمایز یافته‌ی هسته‌دار

✓ **۱۹- به طور طبیعی هر سلول تراژنی، قطعاً.....**

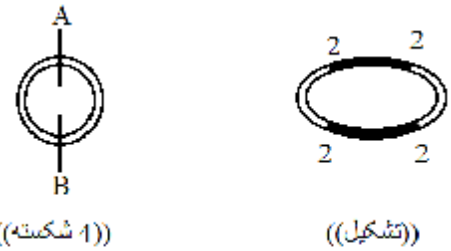
۱) پس از تقسیم، ژن خارجی را به یکی از سلول‌های دختر منتقل می‌کند.
۲) از طریق وکتور، ژن خارجی دریافت می‌کند.
۳)پروتئین متفاوت با دیگر سلول‌ها تولید خواهد کرد.
۴) ژنوتیپ متفاوت با دیگر سلول‌های بدن خواهد داشت.

✓ **۲۰-در انسان سالم هر گامتی که ..... باشد، قطعاً در تعیین جنسیت ..... دخالت دارد.**

۱)دارای ژن پروتئین ریبوزومی L_{10}-دختر
۲) دارای ژن پروتئین ریبوزومی L_{10}- پسر
۳) فاقد ژن سیناپسین ۱- پسر
۴) فاقد ژن بیماری زالی - پسر

پاسخ آزمون

پاسخ ۱) برای وارد کردن دو ژن به دو محل جداگانه بر روی یک پلازمید ۴ پیوند فسفودی استر شکسته و ۸ پیوند تشکیل می‌شود. (گزینه‌ی ۳)



((شکسته ۱)) ((تشکیل))

پاسخ ۲) در کروموزوم اصلی باکتری به دلیل وجود اپران‌های چند ژنی تعداد راه‌اندار و جایگاه شروع رونویسی با تعداد ژن‌ها برابر نیستند اما همیشه تعداد جایگاه‌های راه‌انداز، آغاز رونویسی و پایان رونویسی با هم برابر هستند. (گزینه‌ی ۳)

پاسخ ۳) باکتریوفاژها و پلازمیدها از معمول‌ترین وکتورها هستند که دارای جایگاه شروع همانندسازی، مستقل از کروموزوم اصلی باکتری بوده و می‌توانند مستقل از کروموزوم اصلی همانند سازی کنند. (گزینه‌ی ۲)

پاسخ ۴) برای ایجاد جهش‌های واژگونی و حذف وجود یک کروموزوم در سلول کافیست اما برای ایجاد جهش جابه‌جایی نیاز به وجود دو کروموزوم غیر همتا مثل پلازمید و کروموزوم اصلی است. در ارتباط با جهش مضاعف شدن نیز نیاز به وجود کروموزوم های همتا است، از آنجایی که کروموزوم‌های پلازمید می‌توانند مستقل از کروموزوم اصلی در سلول همانندسازی کنند پس می توانند در باکتری نسخه‌های متعددی داشته باشند و بین آن‌ها جهش مضاعف شدن رخ دهد.
(گزینه‌ی ۴)

پاسخ ۵) الف- نادرست است. مثل باکتریوفاژها
ب- صحیح است. چون اپران مختص باکتری‌ها بوده و باکتری‌ها هم یک نوع RNA پلی‌مراز دارند.
ج- صحیح است. ولی الزاما پیوند هیدروژنی را نمی‌شکند.
د- نادرست است. به‌عنوان مثال اولین ژنی که دست‌ورزی شد rRNA تولید کرد.
(گزینه‌ی ۲)

پاسخ ۶) دقت داشته باشید برای اتصال دو انتهای چسبنده فقط پیوند هیدروژنی شرکت دار و نه پیوند فسفودی استر و اگر انتهای چسبنده به صورت AT باشد حداقل ۴ پیوند هیدروژنی تشکیل می گردد. (گزینه‌ی ۲)

پاسخ ۷) پلازمید و کروموزوم اصلی هر دو DNAی حلقوی اند و رشته‌های پلی‌نوکلئوتیدی غیرقطبی دارند. پلازمیدها می‌توانند مستقل از کروموزوم اصلی و تقسیم باکتری همانندسازی کنند و دارای ژن هایی است که کروموزوم اصلی فاقد آن می‌باشد. (گزینه‌ی ۴)

پاسخ ۸) پیوند هیدروژنی در مرحله‌ی (الف) با آنزیم مهرور کننده در (ج) با هلیکاز و در مرحله (د) توسط RNA پلی‌مراز (به منظور رونویسی از ژن مقاومت به آنتی بیوتیک) شکسته می شود و در مراحل تولید DNA نوترتیب در اثر اتصال دو انتهای چسبنده و در مرحله‌ی (ج) به دلیل همانند سازی و در مرحله (د) به دلیل رونویسی تشکیل می شود. (گزینه‌ی ۴)

پاسخ ۹) در مرحله برش توسط آنزیم مهرورکننده و در مرحله (ج) توسط DNA پلی‌مراز به دلیل محل ویرایش شکسته می شود. (گزینه‌ی ۲)

پاسخ ۱۰) در ژل الکتروفورز علاوه بر DNA و RNA، پروتئین ها نیز از هم تفکیک می شوند. (گزینه‌ی ۳)

پاسخ ۱۱) در آزمایش کوهن و بایر، ژن منتقل شد و واحد سازنده ی آن دئوکسی ریبونوکلئوتید است که در ساختار افزاینده وجود دارد. (گزینه‌ی ۱)

پاسخ ۱۲) در DNAهای حلقوی به ازای هر n مدل برش، n قطعه ایجاد می شودولی در DNAهای خطی به ازای مدل برش n+۱ قطعه حاصل می گردد و پس برای DNA حلقوی ۳ قطعه و DNA خطی ۴ قطعه خواهیم داشت اگر قطعات همگی هم اندازه باشند یک نوار بر روی ژل خواهیم داشت ولی اگر طول قطعات متفاوت باشند V نوار به‌وجود می آید. (گزینه‌ی ۴)

پاسخ ۱۳) پلازمیدها را ی تکثیر شدن نیاز به DNA پلی‌مراز و دستگاه همانند سازی سلول میزبان دارند. دلیل رد گزینه اف، پازمید Ti در سلول یک که برای بیان ژن های خود و بروز گال نیاز به عوامل رونویسی دارد. (گزینه‌ی ۳)

پاسخ ۱۴) در اولین ژل درمانی در دختر بچه سلول تراژنی بعد از بازگشت به بدن می توانست تقسیم و ژن خارجی را به سلول های دختر منتقل کند. دلیل رد گزینه۲، ژن سازنده ی یک نوع پروتئین آنزیمی در دستگاه ایمنی بدن مورد درمان قرار گرفت. (گزینه‌ی ۱)

پاسخ ۱۵) اگر به شکل کتاب دقت کنید می بینید هر دو ویروس دارای یک DNA خطی هستند. (گزینه‌ی ۱)

پاسخ ۱۶) عامل گال پلازمید Ti است و پلازمیدها به دلیل داشتن جایگاه شروع همانند سازی می توانند مستقل از کروموزوم اصلی همانندسازی کنند. عامل مالاریا آغازی است ولی mRNA چند ژنی مربوط به باکتری هاست. عامل هپاتیت ویروس است ولی آنزیم محدودکننده مختص باکتری هاست. عامل آبله گاوی ویروس است و ویروس‌ها ریبوزوم ندارند. (گزینه‌ی ۲)

پاسخ ۱۷) در هپاتیت B کبد آسیب می‌بیند. کبد انسولین نمی سازد بلکه انسولین توسط پانکراس تولید و کبد انرام هرف آن است. (گزینه‌ی ۴)

پاسخ ۱۸) در مراحل تشیل شدن گوسفند دالی، سلول پیکری به محیط کشت ویژه وارد تا چرخه ی سلولی متوقف شود. (گزینه‌ی ۴)

پاسخ ۱۹) گزینه‌ی۱ نادرست است. هر سلولی تراژنی قطعا پس از تقسی، ژن خارجی را به دو سلول دختر منتقل می‌کند.

پاسخ ۲۰) گزینه‌ی۲ نادرست است. مثلاً از طریق تفنگ ژنی می‌تواند ژن دریافت کند.