فصل هفتم
فناوری‌های نوین زیستی

درسنامه

در این فصل می‌خواهیم یکی از جدیدترین فناوری‌ها در زمینهٔ زیست‌شناسی را بررسی کنیم. مهندسی ژنتیک، مهندسی پروتئین و کلاً فناوری‌های جدیدی زمینه‌ساز پیشرفت زندگی بشری در زمینه‌های پزشکی، کشاورزی، دامپروری و... شده است که در این قسمت تاریخچه و روش آن‌ها را مطالعه می‌کنیم.

مثلاً سال‌ها بود که از پلاستیک‌های **غیرقابل تجزیه** در طبیعت بیشتر استفاده می‌شد که آلوده‌کنندهٔ محیط‌زیست نیز بودند ولی در حال حاضر، به کمک روش‌های زیست‌**فناوری**، پلاستیک‌های **قابل تجزیه** با **هزینهٔ کمتر** ایجاد شده‌اند. این عمل با وارد کردن ژن‌های تولیدکننده این مواد از **باکتری به گیاه** امکان‌پذیر شده است که اصل درس این فصل در مورد مراحل این فعالیت‌ها می‌باشد.

تا چند سال قبل اگر در مورد انتقال ژن از گوجه‌فرنگی به باکتری و تولید آن در باکتری صحبت می‌شد، فقط برای خنده و رویاهای آینده جالب بود ولی در حال حاضر با انتقال ژن‌های مفید از جانداران مختلف به همدیگر، سعی در **تولید انبوه این ژن‌ها** و **محصولات مفید** آن‌ها می‌شود تا در بهبود مشکلات زیستی بشر و محیط‌زیست از آن‌ها استفاده شود.

گفتار ۱ زیست‌فناوری و مهندسی ژنتیک

تا چند سال قبل دیابت شیرین یا مرض قند یکی از بی‌علاج‌ترین و کشنده‌ترین بیماری‌های شایع بود و افراد بیمار هزینه بسیار سنگینی بابت تهیهٔ هورمون **انسولین** می‌پرداختند (*چون انسولین را به صورت طبیعی (مثلاً از لوزالمعدهٔ گاو) به دست می‌آوردند.*) ولی در حال حاضر با روش‌های فناوری زیستی، در مهندسی ژنتیک می‌توان به کمک **باکتری‌ها**، مقدار زیادی انسولین را به صورت ساده و ارزان قیمت به دست آورد.

همان‌طور که در فصل ۴ مشاهده کردید، **جهش‌ها** سبب ایجاد بیماری‌های **ژنتیکی** مختلفی می‌شوند که **بسیاری** از آن‌ها سبب **نقص در فعالیت پروتئینی خاص** شده‌اند. مثل افراد هموفیل در اثر ژن جهش یافته، عامل انعقادی VIII (۸) خون را نمی‌سازند و مشکل انعقاد خون دارند. زمان قدیم باید از خون افراد سالم ماده دارویی (*عامل ۸ خون*) را به دست می‌آوردند که این فعالیت می‌توانست سبب انتقال بیماری‌های نهفته شود. در حال حاضر **با انتقال ژن سازندهٔ این ماده به جاندار ساده‌ای مثل باکتری**، می‌توانند مقدار فراوانی مادهٔ انعقادی توسط باکتری‌ها تولید کنند. در این قسمت می‌خواهیم به بررسی روش‌های تولید یک پروتئین انسانی در باکتری‌ها با انتقال ژن از انسان به باکتری بپردازیم. **مثلاً می‌خواهیم ببینیم باکتری چگونه ژن تولید هورمون رشد انسانی را می‌پذیرد؟ و آیا آن را بیان می‌کند؟ که مبحثی بسیار جالب می‌باشد.**

نکته

برای اینکه باکتری یا هر جاندار دیگری بتواند ژن گونهٔ دیگری را بیان کند، ضرورت دارد که تمام احتیاجات این فرایندها در باکتری و ... فراهم شود.

زیست‌فناوری چیست؟

به هرگونه فعالیت **هوشمندانه بشر** که با استفاده از **موجودات زنده** سبب تولید محصولات گوناگونی شود یا سبب **بهبود** و تغییر آن محصول شود، **زیست‌فناوری** می‌گویند. در حال حاضر زیست‌فناوری به شاخصی برای **نشانه پیشرفت کشورها** در قرن کنونی تبدیل شده است. این علم، قلمروی **بسیار گسترده‌ای** در شاخه‌های کشاورزی، پزشکی، دامپروری، صنعتی، غذایی و... دارد که گرایش‌های مختلف علمی مثل علوم زیستی، فیزیک، ریاضیات و علوم مهندسی و... را دربرمی‌گیرد.

زیست‌فناوری، روش‌های متنوعی مثل **مهندسی ژنتیک** (*برای تولید انبوه ژن‌ها و محصولات مفید*)، مهندسی **پروتئین** (*برای تولید پروتئین‌های جدید دستکاری شده*) و مهندسی **بافتی** (*برای ایجاد بافت از یاخته‌های تمایز نیافته*) دارد که در این فصل به تدریج آن‌ها را بررسی می‌کنیم.

نکته

از آنجا که زیست‌فناوری شاخه‌ای از علم تجربی زیست‌شناسی می‌باشد، پس
- ۱) به بررسی علمی جانداران و فرایندهای زیستی می‌پردازد.
- ۲) فقط در جست‌وجوی پدیده‌های طبیعی و قابل مشاهده می‌باشند.
- ۳) اساس آن، مشاهده است.

تاریخچه زیست‌فناوری

مطالعات و روش‌های زیست‌فناوری از سال‌های بسیار دور آغاز شده است که **سه دورهٔ زمانی** برای آن از ابتدا تاکنون در نظر می‌گیرند:

الف) زیست‌فناوری سنتی

از زمان‌های بسیار دور، بشر محصولاتی غذایی مثل سرکه، نان، محصولات لبنی (*ماست، پنیر*) و... را با استفاده از محصولات **تخمیری** به دست می‌آورده است که این روش را زیست‌فناوری **سنتی** می‌گویند که قدمت بسیار زیادی دارد. (*تولید محصولات شیری و خیارشور با تخمیر لاکتیکی یا تولید نان در اثر تخمیر الکلی، نمونه‌هایی از زیست‌فناوری سنتی می‌باشند.*)

نکته

در زیست‌فناوری سنتی، از کشت ریزجانداران و انتقال ژن، استفاده نمی‌کردند ولی از جانداران تخمیرکننده استفاده می‌شد (*بدون کشت دادن آن‌ها*).

ب) زیست‌فناوری کلاسیک

در این روش، **انسان** از مدتی قبل با استفاده از روش‌های تخمیر یا **کشت** ریزجانداران مثل باکتری، قارچ تک‌یاخته‌ای و... موادی مثل آنتی‌بیوتیک‌ها (*پادزیست*)، آنزیم‌ها و مواد غذایی ایجاد می‌کرد ولی هنوز از انتقال ژن و دستکاری ژنتیکی برای ایجاد محصول، خبری نبود.

نکته

تولید مواد دارویی و برخی مولکول‌های زیستی مثل آنزیم با روش تخمیر، اولین‌بار در این روش انجام شد.

پ) زیست‌فناوری نوین

این دوره که قدمت خیلی زیادی ندارد، از وقتی آغاز شد که محققین توانستند ابتدا با **انتقال ژن** بین **دو میکروارگانیسم** (*مثل دو باکتری*)، تغییر یا اصلاحی در ریزجانداران گیرنده ژن ایجاد کنند. در حقیقت، سبب ایجاد ترکیبات جدید و با **کیفیت و مقادیر** بیشتر شدند. در این فصل به مبحث **زیست‌فناوری نوین** در زمینهٔ مهندسی ژنتیک، مهندسی پروتئین و بافت می‌پردازیم و خدماتی را که در زمینهٔ کشاورزی، پزشکی یا دامپروری انجام داده‌اند را تا حدودی بررسی می‌کنیم.

نکته

در زیست‌فناوری **نوین** سه روش بسیار مهم وجود دارد:
- ۱) مهندسی **ژنتیک** ← تولید انبوه ژن یا فراوردهٔ ژنی توسط موجودات ساده (*بدون تغییر در محصول*)
- ۲) مهندسی **پروتئین** ← **تغییر** در ویژگی پروتئین‌ها و عملکرد آن‌ها (*محصول با نوع اولیه متفاوت است*)
- ۳) مهندسی **بافت** ← تولید بافت‌های متنوع از یاخته‌های **تمایز نیافته**

◄ در این فصل ۳ گفتار وجود دارد. در گفتار اول به بررسی اهداف و روش **مهندسی ژنتیک** می‌پردازیم، در گفتار بعد به **مهندسی پروتئین** و **بافت** می‌رسیم و در گفتار آخر به **کاربرد زیست‌فناوری** در رشته‌های مختلف و کمک به جامعهٔ بشری می‌پردازیم.

تست ۱ اولین مدل زیست‌فناوری ..... جدیدترین نوع زیست‌فناوری .....

۱) همانند - از روش‌های تخمیری، پادزیست‌ها را ایجاد کرد.
۲) برخلاف - فقط در تولید مواد غذایی، استفاده بهینه می‌کرد.
۳) همانند - سبب انتقال ژن بین دو ریزجانداران نمی‌شد.
۴) برخلاف - به تولید آنزیم‌هایی در ایجاد مواد غذایی می‌پرداخت.

پاسخ ۲ انتقال ژن فقط در روش زیست‌فناوری نوین به کار می‌رود ولی تخمیر و تولید مواد غذایی در هر دو نوع زیست‌فناوری سنتی و کلاسیک مشاهده می‌شود.

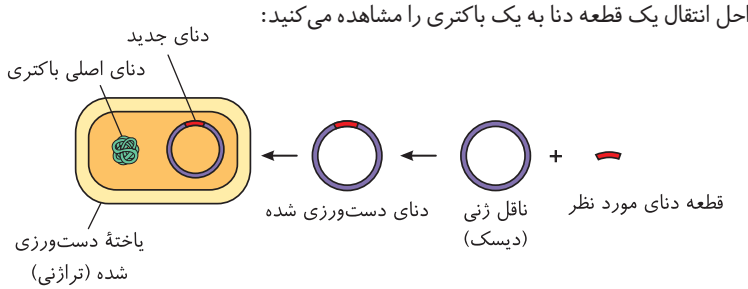
انواع زیست‌فناوری	روش استفاده	تولیدات (محصولات)
زیست‌فناوری سنتی	**تخمیر** مواد غذایی توسط ریزجانداران	محصولات تخمیری مانند سرکه، نان و فراورده‌های لبنی دارد.
زیست‌فناوری کلاسیک	تخمیر و کشت ریزجانداران (*میکروارگانیسم‌ها*)	موادی مثل پادزیست‌ها (*آنتی‌بیوتیک‌ها*)، آنزیم‌ها و مواد غذایی ایجاد شدند.
زیست‌فناوری نوین	انتقال ژن بین دو جاندار	شروع آن با انتقال ژن بین دو میکروارگانیسم بود. تغییرات و اصلاحاتی در خصوصیات ریزجانداران ایجاد کردند و ترکیبات جدید را با مقدار و کارایی بالاتر ایجاد کردند.

مهندسی ژنتیک

مهندسی ژنتیک یکی از روش‌های مهم و مؤثر از زیست‌فناوری نوین (*بیوتکنولوژی*) می‌باشد که ژن یا محصول مفیدی از آن را **بدون اینکه تغییری در ژن‌ها ایجاد کنند**، به انبوه‌سازی می‌رسانند. به‌طور کلی در مهندسی ژنتیک، **قطعه‌ای از DNA یک گونه** که دارای ژن‌ها یا ژن مفیدی می‌باشد را جدا کرده، سپس به کمک مولکول ناقل ژنی (*مثل ریبک‌ها*)، آن ژن را به یاختهٔ دیگر از **جاندار گونهٔ دیگری** انتقال می‌دهند. در این حالت، **یاختهٔ** دریافت‌کننده قطعه DNA مورد نظر را **یاختهٔ دست‌ورزی شده** ژنتیکی می‌نامند که دارای صفت جدید می‌باشد. به **جاندار** که این ترکیب جدید مادهٔ ژنتیکی را دارد، جاندار تغییر یافته ژنتیکی یا **تراژنی** می‌گویند.

دقت کنید که جاندار تراژنی، **گونه‌ای متفاوت** با جاندار دهنده ژن دارد و **ژنوم** آن‌ها متفاوت است. این روش، اولین‌بار در انتقال ژن به **باکتری‌ها** انجام شد. در حقیقت باکتری‌ها **اولین** جانداران **تراژن** بودند ولی با پیشرفت‌های بعدی دست‌ورزی ژنتیکی در یاخته‌های موجودات تکامل یافته گیاهی و جانوری نیز انجام شد.

در تصویر زیر به‌طور خلاصه مراحل انتقال یک قطعه دنا به یک باکتری را مشاهده می‌کنید:



نکته

در فصل اول زیست دهم بیان شد که **گیاهان خودرو** به دلیل **سازش**، می‌توانند در محیط‌ها و اقلیم‌های مختلف به آسانی رویش کنند، رشد و **زادآوری سریعی در زمان کوتاه** داشته باشند. از طرفی تولیدکنندگی این گیاهان بسیار زیاد با تولید **دانه و میوه** می‌باشد. محققین فناوری زیستی از **ژن‌های** گیاهان خودرو برای تولید محصولات بهتر و مقاومت در شرایط متفاوت برای **گیاهان زراعی** نیز استفاده می‌کنند که این روش با مهندسی ژنتیک صورت می‌گیرد. در این حالت گیاهان زراعی تولید شده را **جاندار تراژنی** می‌گویند.

ژن مفید در گیاهان خودرو + ناقل ژنی ← انتقال به گیاه زراعی ← **ایجاد صفت گیاه خودرو در گیاه زراعی**

● خلاصه مراحل ایجاد گیاهان زراعی تراژنی از طریق مهندسی ژنتیک با ژن‌های گیاه خودرو مقاوم به خشکی

۱) تعیین صفت یا صفات مطلوب از گونه دیگر ← مثلاً پیدا کردن ویژگی مقاومت به خشکی در گیاهان خودرو

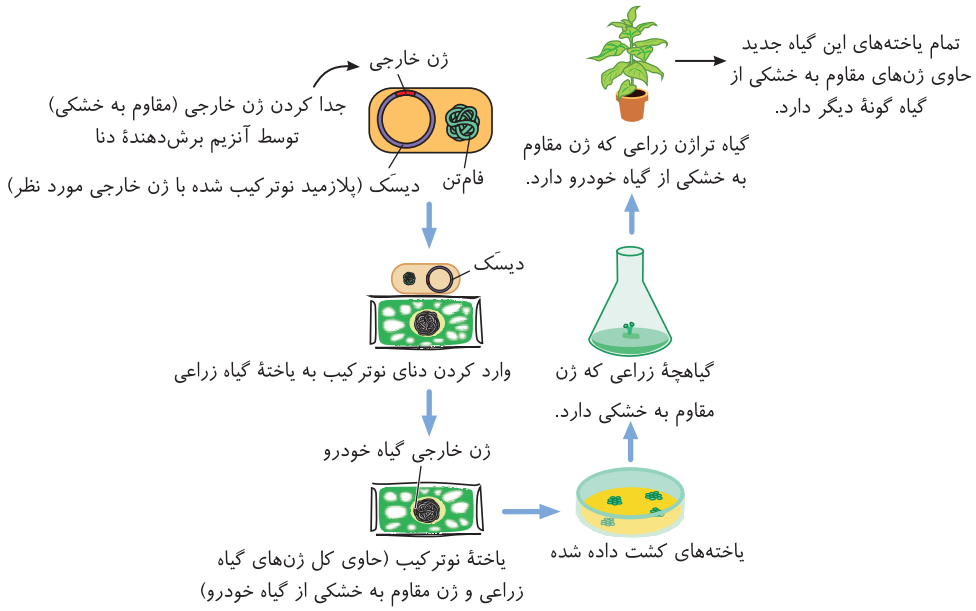
۲) استخراج ژن یا ژن‌های صفت مقاومت به خشکی در گیاهان خودرو ← توسط آنزیم‌های برش‌دهندهٔ دنا (*در ادامهٔ فصل می‌خوانیم*)

۳) ادغام ژن مورد نظر با یک **ناقل ژنی** مثل دیسک‌ها (*پلازمیدها*) و انتقال آن‌ها به یاخته گیاه زراعی (*ایجاد یاخته نوترکیب یا دست‌ورزی شده*)، سپس باید یاخته‌های نوترکیب را در محیطی کشت داد تا **گیاهچه کوچکی با ژن‌های مفید** ایجاد شود.

۴) ایجاد گیاه زراعی تراژنی که در همهٔ یاخته‌های خود، ژن مفید مقاومت به خشکی دارند (*این ژن در ابتدا فقط در گیاه خودرو وجود داشت*).

۵) بررسی دقیق و اثبات اینکه این گیاه تراژنی جدید، برای **انسان و محیط‌زیست** بی‌خطر باشد (*ایمنی زیستی*).

۶) در صورت مفید بودن و مثبت بودن آزمایش و ایجاد محصولات بهینه باید با رعایت اصول ایمنی زیستی، گیاه تراژنی حاصل را کشت داد و تکثیر کنیم.



«روش عمومی تولید یک گیاه زراعی تراژنی»

نکته

جاندار تراژن یا تغییر یافتهٔ ژنتیکی ایجاد شده در روش بالا، جانداری است که **همهٔ** یاخته‌های آن از تکثیر یک یاختهٔ نوترکیب شده ایجاد شده است. این جاندار در همهٔ یاخته‌های خود، ژن مورد نظر را دارد و می‌تواند ویژگی جدید خود را به نسل بعد هم منتقل کند.

● هدف مهندسی ژنتیک

همان‌طور که گفتیم یکی از اهداف اصلی مهندسی ژنتیک، تولید انبوه از ژن‌ها و فراورده‌های ژنی (RNA و *پروتئین*) می‌باشد. به تکثیر انبوه **یک یا چند ژن** که با جدا کردن آن‌ها از جاندار اولیه شروع می‌شود، **همسانه‌سازی DNA** (*رنا*) می‌گویند.

به‌طور خلاصه باید بدانید که برای مهندسی ژنتیک ابتدا با ابزارهای مختلفی در **خارج یاخته**، ژن یا ژن‌های مورد نیاز را از کل مادهٔ وراثتی تهیه می‌کنیم و سپس به وسیلهٔ یک ناقل همسانه‌سازی (*مثل دیسک یا باکتریوفاژها*)، این ژن‌ها را به درون ژنوم میزبان جدیدی منتقل می‌کنیم. هدف از این کار در ابتدا تولید مقادیر زیادی از DNA خالص جدا شده می‌باشد و سپس می‌توان با بیان این ژن‌ها و ایجاد محصولات خاص، در مصارف تحقیقاتی، از آن‌ها استفاده کرد.

تذکر: کل محتوای ژنتیکی درون یاخته اعم از درون هسته و سیتوپلاسم (راکیزه و سبزدیسه) می‌باشد.

بررسی مرحله به مرحلهٔ مهندسی ژنتیک برای همسانه‌سازی دِنا

۱) جداسازی قطعهٔ مورد نظر از ژنوم اصلی
۲) اتصال قطعهٔ مورد نظر (حاوی یک یا چند ژن) به ناقل ژنی و تشکیل DNA نوترکیب
۳) وارد کردن DNA نوترکیب به یاختهٔ میزبان و تکثیر دنا (همانندسازی دنا)
۴) جداسازی یاخته‌های تراژنی

مرحلهٔ اول: جداسازی قطعهٔ مورد نظر از کل DNA (دنا) ژنوم

همواره در مهندسی ژنتیک ابتدا باید ژن یا ژن‌های مورد نظر را از کل ژنوم جاندار جدا کنیم که این کار توسط انواعی از **آنزیم‌های باکتریایی** خاص به نام **آنزیم برش‌دهنده** صورت می‌گیرد. این آنزیم‌ها توانایی **برش DNA** را در بخش‌های **خاصی** دارند که برای بهتر فهمیدن ادامهٔ مراحل مهندسی ژنتیک بهتر است ابتدا نکاتی را در مورد فعالیت این آنزیم‌ها بدانید:

● ویژگی آنزیم‌های برش‌دهنده

۱) این مولکول‌ها، آنزیم‌هایی پروتئینی با **نقش نوکلئازی برای DNA** می‌باشند که **فقط در باکتری‌ها ساخته می‌شوند**، یعنی رمز ژنتیکی ساخت آن‌ها روی ژنوم اصلی باکتری قرار دارد (ژن رمزکننده ساخت آنزیم محدودکننده روی دنای حلقوی قرار دارد). البته این آنزیم‌ها در رناتن سیتوپلاسمی و به‌طور مستقیم از روی رمزه‌های رنای پیک طی ترجمه تولید می‌شوند.

۲) این آنزیم‌ها قسمتی از **سامانه دفاعی** باکتری‌ها بوده‌اند تا بتوانند سبب **تخریب DNA** در یاخته‌ها و جانداران مزاحم آن‌ها شوند.

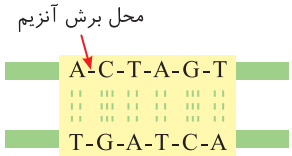
۳) اولین مرحلهٔ همسانه‌سازی ژن‌ها در مهندسی ژنتیک، توسط این آنزیم صورت می‌گیرد که باعث جداسازی ژن مورد نظر می‌شود.

۴) این آنزیم‌ها، **توالی‌های نوکلئوتیدی** خاصی به نام **جایگاه تشخیص آنزیم** را در DNAهای **خطی و حلقوی** شناسایی می‌کنند و برش می‌دهند. این جایگاه برای هر آنزیم برش‌دهنده، **اختصاصی** می‌باشد و شامل **چند جفت** نوکلئوتید خاص در دو رشته DNA می‌باشد.

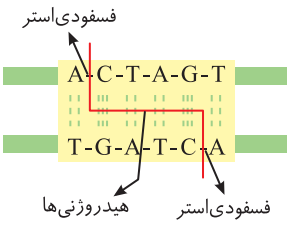
۵) توالی نوکلئوتیدی هر جایگاه تشخیص این آنزیم‌ها طوری در دنا قرار گرفته‌اند که **در دو رشتهٔ دنا، از دو طرف مخالف، به‌طور یکسان قرار گرفته‌اند**. مثلاً توالی $\begin{pmatrix} CATATG \\ GTATAC \end{pmatrix}$ می‌تواند یک توالی تشخیص برای یک آنزیم برش‌دهنده باشد. همان‌طور که ملاحظه می‌کنید اگر رشتهٔ بالایی را از چپ به راست بخوانید ($\xrightarrow{CATATG}$)، همان توالی را دارد که اگر رشتهٔ پایینی را از راست به چپ بخوانید ($\xleftarrow{GTATAC}$). این نکته در مورد هر جایگاه تشخیص این نوع آنزیم‌ها باید رعایت شوند.

۶) هر آنزیم برش‌دهنده، در هر جایگاه تشخیص خود **قطعاً دو پیوند فسفودی‌استر را در دو جایگاه مشابه برش می‌دهد**. یعنی در هر رشته از جایگاه تشخیص خود، یک پیوند فسفودی‌استر را برش می‌دهد. به دنبال این عمل معمولاً تعدادی پیوند هیدروژنی نیز شکسته می‌شود. در نهایت در اثر عمل این آنزیم‌ها در هر جایگاه تشخیص، انتهایی از مولکول دنا ایجاد می‌شود که در یک رشته توالی بلندتری دارد که به آن **انتهای چسبنده** گفته می‌شود.

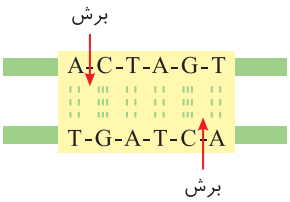
به‌طور مثال اگر آنزیم برش‌دهنده‌ای دارای جایگاه تشخیص با توالی



باشد، در هر جایگاه تشخیص این آنزیم ۱۰ پیوند فسفودی‌استر بین نوکلئوتیدها **وجود دارد**. این آنزیم مثلاً می‌تواند دو پیوند فسفودی‌استر بین نوکلئوتیدهای دارای باز آلی A و C (هر رشته یکی) را **فقط** برش دهد. در این جایگاه تشخیص در حالت عادی (قبل از برش)، ۱۴ پیوند هیدروژنی بین بازها موجود بوده است ولی پس از برش دو پیوند فسفودی‌استر

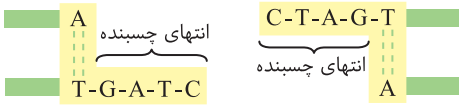


، در ادامه پیوندهای هیدروژنی بین ۴ جفت نوکلئوتید دیگر نیز شکسته می‌شود.



(بین A و T، دو پیوند هیدروژنی ولی بین C و G، سه پیوند هیدروژنی وجود دارد.)

در نهایت پس از جدا شدن این دو قسمت، در هر سمت، قطعه حاصله **یک انتهای چسبنده** وجود دارد که قسمت تک‌رشته‌ای بلندتر با توالی (C-T-A-G) ایجاد می‌شود.



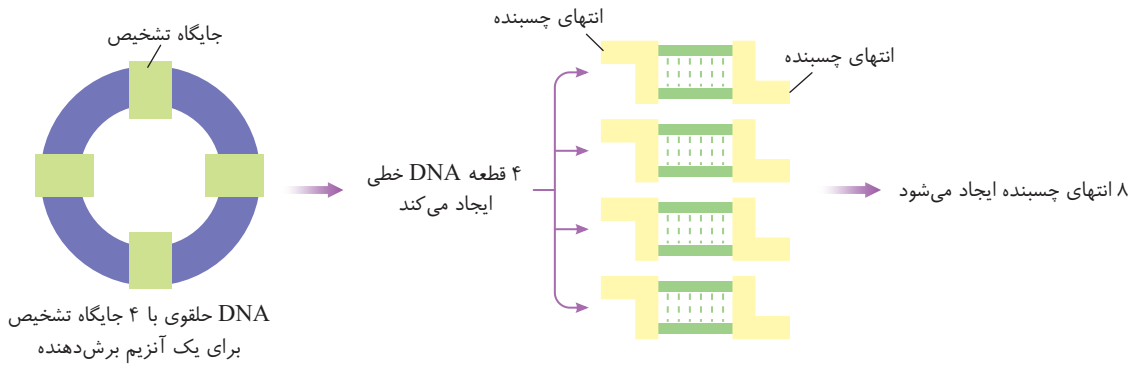
نکته

آنزیم دنابسپاراز و برش‌دهندهٔ ژنی برخلاف هلیکاز و رنابسپاراز، به‌طور مستقیم سبب برش پیوند هیدروژنی نمی‌شوند ولی طی فعالیت آن‌ها در ویرایش و یا برش دنا، تعداد کمی پیوند هیدروژنی نیز شکسته می‌شود.

نکته

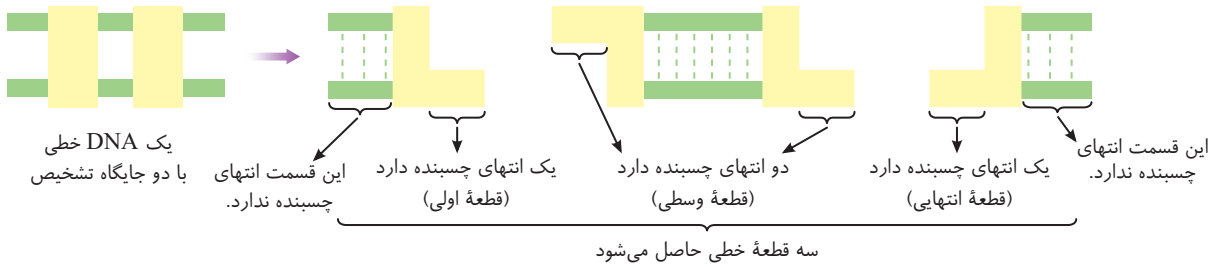
هر انتهای چسبنده (*رشتهٔ بلند تک‌رشته‌ای*) توانایی ایجاد **یک** پیوند فسفودی‌استر (*در این مثال از سمت C*) و تعدادی پیوند هیدروژنی بین بازهای آلی خود (G-A-T-C) با مکمل خود دارد. دقت کنید که نوکلئوتیدهای $\binom{A}{T}$ که پیوند هیدروژنی بین آن‌ها شکسته نشده است، جزء انتهای چسبنده به حساب نمی‌آیند ولی قسمتی از جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده می‌باشد.

۷) از اثر هر آنزیم برش‌دهنده بر یک DNA حلقوی که دارای n جایگاه تشخیص می‌باشد، n قطعهٔ خطی حاصل می‌شود و بدیهی است که از برش هر جایگاه نیز **دو انتهای چسبنده تک‌رشته‌ای** ایجاد می‌شود.



۸) از اثر هر آنزیم برش‌دهندهٔ دنا بر یک DNA خطی، اگر این DNA دارای n جایگاه تشخیص برای آنزیم فوق باشد، (n+۱) قطعهٔ خطی حاصل می‌شود.

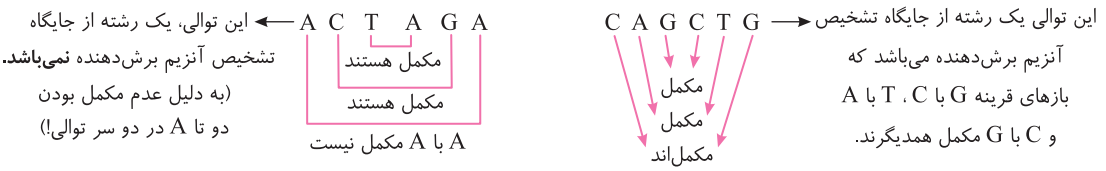
قطعات حاصل که در دو سر مولکول دنای اولیه قرار داشته‌اند، حاوی یک انتهای چسبنده می‌شوند ولی قطعاتی که بین دو جایگاه برش بوده‌اند، دارای دو انتهای چسبنده می‌شوند.



۹) بر طبق قانون احتمالات، هرچه **مقدار نوکلئوتیدهای** یک مولکول DNA، بیشتر باشد، **احتمال** تکرار جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده نیز بیشتر می‌باشد.

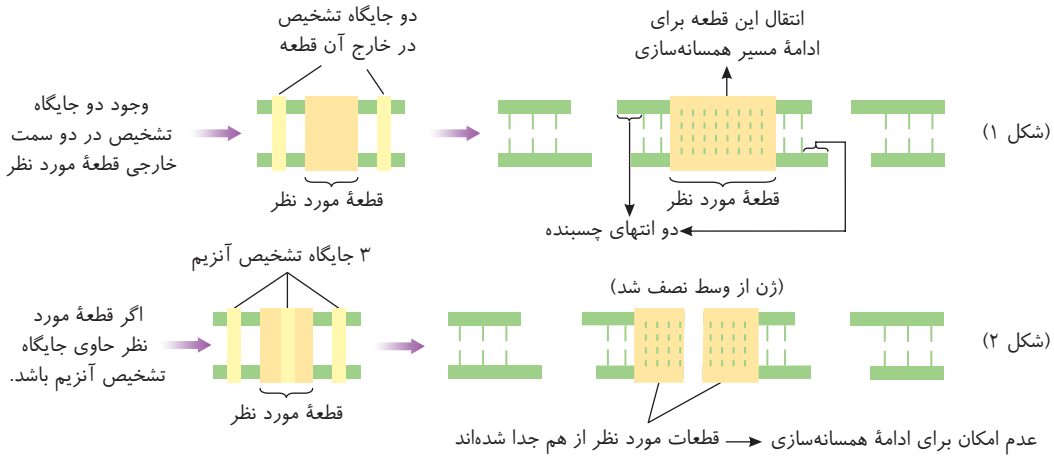
۱۰) هرچه **تعداد جایگاه تشخیص** یک آنزیم برش‌دهنده در مولکول DNAای بیشتر باشد، **تعداد قطعات** حاصله **بیشتر** شده ولی **اندازهٔ** قطعات **کوچک‌تر** می‌شوند.

۱۱) یک راه تشخیص برای اینکه بفهمید یک توالی می‌تواند جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده باشد یا نه، این است که **در هر رشته دنا** از جایگاه تشخیص آن آنزیم، بازهای آلی نوکلئوتیدهای قرینه هم، باید با هم مکمل باشند.



۱۲) هر جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده، حاوی توالی **کوتاه و خاصی** از نوکلئوتیدهای DNA می‌باشد که **فاقد قند ریبوز و باز آلی یوراسیل** می‌باشد. (*مثلاً آنزیم‌های برش‌دهنده، قدرت برش رونوشت‌های آنزون و اینترون را ندارند ولی اینترون و آنزون‌های روی دنا را می‌توانند برش دهند. حتماً به خاطر دارید که رونوشت‌ها، قسمتی از mRNA می‌باشند که آنزیم برش‌دهنده روی آن‌ها اثری ندارد.*)

۱۳) برای جدا کردن یک ژن یا یک قطعه از DNA، حتماً باید **حداقل دو جایگاه تشخیص** برای آنزیم مورد استفاده در **دو سمت خارجی** آن قطعه وجود داشته باشد (*شکل ۱*). یعنی نباید در **وسط توالی ژنی** که می‌خواهیم جدا کنیم، جایگاه تشخیص آن آنزیم برش‌دهندهٔ خاص وجود داشته باشد چون در این صورت آن ژن نیز از وسط برش خواهد خورد و نمی‌توان آن را به‌طور کامل همسانه‌سازی کرد. برای درک این مطلب، به شکل‌های زیر دقت کنید:



۱۴) آنزیم‌های برش‌دهندهٔ دنا **همانند** نقش ویرایشی DNA پلیمراز (*رنبـــپراز*)، فعالیت نوکلئازی با شکستن پیوند فسفودی‌استر در DNA دارند ولی آنزیم برش‌دهنده، **برخلاف** DNA پلیمراز، قدرت **تشکیل** پیوند فسفودی‌استر ندارد.

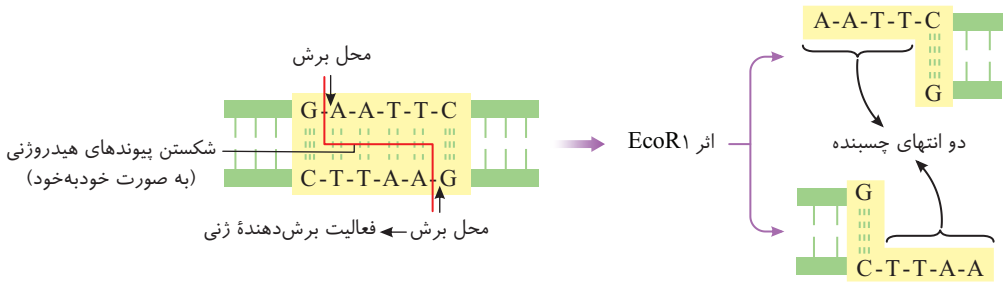
۱۵) آنزیم‌های برش‌دهنده، با روش‌های خاصی، جایگاه تشخیص خود را شناسایی می‌کنند و قطعات را جدا می‌کنند.

۱۶) دقت کنید که آنزیم برش‌دهندهٔ دنا، **فقط** توانایی **شکستن پیوند فسفودی‌استر** دارد ولی در ادامهٔ عمل، تعداد کمی پیوند هیدروژنی نیز شکسته می‌شوند. شکستن پیوند هیدروژنی از اعمال آنزیم برش‌دهندهٔ دنا و دنابسپاراز نمی‌باشد.

۱۷) آنزیم EcoR۱، اولین آنزیم برش‌دهنده‌ای بود که شناسایی شد. این آنزیم توسط باکتری اشرشیاکلای ساخته می‌شود که می‌تواند در DNAهای خطی و حلقوی، جایگاه تشخیص

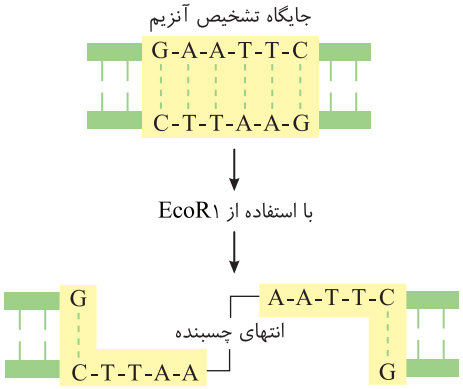
G-A-A-T-T-C
C-T-T-A-A-G

را شناسایی کند. این آنزیم **در هر رشته** با قطع پیوندهای فسفودی‌استر بین دو نوکلئوتید دارای باز آلی G و A عمل می‌کند و در ادامه با شکسته شدن خودبه‌خود ۸ پیوند هیدروژنی بین ۴ جفت بازهای A و T، سبب برش DNA می‌شود.



◀ انتهای چسبنده حاصل از عمل EcoR۱ دارای توالی AATT می‌باشد. این انتهای چسبنده، که از قسمتی که نوکلئوتید آدنین‌دار دارد می‌تواند با قطعهٔ دیگری، یک پیوند فسفودی‌استر برقرار کند.

◀ در اثر فعالیت آنزیم EcoR۱، دو پیوند فسفودی‌استر (*کووالانس یا اشتراکی*) شکسته شده و به دنبال آن ۸ پیوند هیدروژنی نیز شکسته می‌شود.



«برش مولکول دنا توسط آنزیم EcoR۱»

تست ۲ **به‌طور معمول، ژنی که تعداد جایگاه‌های تشخیص بیشتری برای یک آنزیم برش‌دهنده داشته باشد، باید قطعات ایجاد شدهٔ آن ..... و تعداد قطعات ..... باشد.**

۱) کوچک‌تر - بیشتر ۲) بزرگ‌تر - بیشتر ۳) کوچک‌تر - کمتر ۴) بزرگ‌تر - کمتر

پاسخ ۱ به هر حال در یک طناب هم هرچه بیشتر آن را برش دهید، تعداد قطعات بیشتر و اندازهٔ قطعات هم کوچک‌تر می‌شود. *(در دنا هم هرچه تعداد جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده بیشتر باشد، تعداد قطعات بیشتر ولی اندازهٔ آن‌ها کوتاه‌تر می‌شود.)*

تست ۳ **عمل کدام دو آنزیم روی پیوند فسفودی‌استر همیشه مخالف هم می‌باشد؟**

۱) EcoR۱ و رنابسپاراز ۲) EcoR۱ و DNA پلیمراز ۳) رنابسپاراز و DNA پلیمراز ۴) DNA پلیمراز و نوکلئازها

پاسخ ۱ EcoR۱ با فعالیت **نوکلئازی**، پیوند فسفودی‌استر را می‌شکند، ولی رنابسپاراز در رونویسی فقط پیوند فسفودی‌استر را تشکیل می‌دهد. DNA پلیمراز در ویرایش، قدرت شکستن پیوند فسفودی‌استر را دارد، ولی در همانندسازی تشکیل فسفودی‌استر را انجام می‌دهد. *(در متن پرسش به کلمهٔ همیشه دقت کنید.)*

● مثال عددی برای فهم بهتر عمل آنزیم‌های برش‌دهندهٔ دنا (البته مخصوص دانش‌آموزان ویژه!)

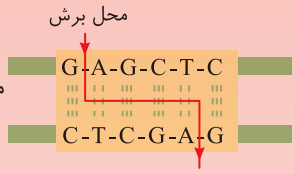
سؤال: آنزیم برش‌دهنده‌ای که جایگاه تشخیص آن حاوی ۶ جفت نوکلئوتید می‌باشد، اگر توالی یک رشته آن به صورت G-A-?-C-?-? (محل برش) **باشد، از اثر این آنزیم بر ۳ مولکول DNA خطی و ۴ مولکول DNA حلقوی، پس از اتمام فعالیت آنزیم‌ها، کلاً ۱۰۰ قطعه DNA که همگی خطی هستند ایجاد شده است. در اثر عمل این آنزیم چند پیوند فسفودی‌استر شکسته شده است و چند پیوند هیدروژنی به دنبال عمل آن شکسته می‌شود؟ (بین بازهای A و T، دو پیوند هیدروژنی و بین G و C، سه پیوند هیدروژنی وجود دارد.)**

پاسخ: ابتدا باید توالی جایگاه تشخیص این آنزیم را به‌طور کامل پیدا کنید و بررسی کنید که در اثر برش در هرکدام از آن‌ها چند پیوند فسفودی‌استر و چند پیوند هیدروژنی شکسته می‌شود. همان‌طور که در نکتهٔ شماره ۱۱ گفتم، بازهای آلی یک رشته DNA در جایگاه تشخیص از دو طرف با هم مکمل هستند در نتیجه باید توالی گفته شده در سؤال به صورت روبه‌رو باشد.

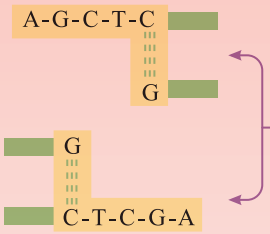
G A ? C ? ? → G A G C T C

بازهای قرینه باید دوتا دوتا با هم مکمل باشند.

پس دو رشته جایگاه تشخیص به صورت

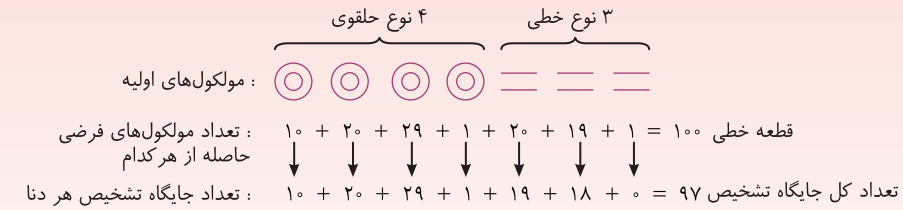


می‌باشد که با توجه به محل برش مشخص شده در هر جایگاه دو پیوند فسفودی‌استر و ۱۰ پیوند هیدروژنی شکسته می‌شود و انتهاهای چسبنده‌ای با توالی تک‌رشته‌ای AGCT ایجاد می‌شوند.



از اثر این آنزیم برش‌دهنده بر هر نوع DNA حلقوی، اگر n قطعه حاصل شود، n جایگاه تشخیص هم وجود داشته است ولی در صورت برش مولکول‌های DNA خطی، اگر در اثر برش هرکدام، n قطعه حاصل شود، یعنی $(n-1)$ جایگاه تشخیص روی آن وجود داشته است. پس وقتی کلاً ۱۰۰ قطعه DNA خطی ایجاد شده است یعنی ۹۷ جایگاه تشخیص وجود داشته است.

به‌طور مثال به حالت زیر توجه کنید:



تعداد جایگاه‌های تشخیص = تعداد مولکول‌های خطی اولیه − تعداد کل قطعات خطی حاصله

نتیجهٔ نهایی: با توجه به اینکه در هر جایگاه ۲ پیوند فسفودی‌استر و ۱۰ پیوند هیدروژنی شکسته می‌شود پس:

پیوند فسفودی‌استر شکسته می‌شود ۹۷×۲=۱۹۴

پیوند هیدروژنی جدا می‌شود ۹۷×۱۰=۹۷۰

پیوند شکسته می‌شود ۹۷×۱۲=۱۱۶۴

تست ۴ **اگر ژنوم اصلی یاخته در عامل ورآمدن خمیر نان توسط EcoR۱ به ۷ قطعه تقسیم شود، در مجموع این آنزیم برای ایجاد این قطعات، .....**

۱) در هفت جایگاه به برش چهارده پیوند اشتراکی پرداخته است.
۲) به حداقل هفت دیسک نیاز داشته است.
۳) ۲۸ پیوند فسفودی‌استر تشکیل داده است.
۴) به شش جایگاه تشخیص و برش دوازده پیوند نیاز داشته است.

پاسخ ۴ دقت کنید که عامل ورآمدن خمیر نان، تخمیر الکلی است که توسط مخمر نان صورت می‌گیرد. این عامل نوعی قارچ بوده که یوکاریوت است و ژنوم اصلی آن خطی می‌باشد. در ژنوم خطی برای تولید n قطعه، به $(n-1)$ محل برش نیاز است که هر برش توسط EcoR۱ باعث شکسته شدن دو پیوند فسفودی‌استر بین ۲ نوکلئوتید A‌دار و G‌دار می‌شود. پس در ژنوم خطی این مخمر شش جایگاه وجود دارد که در هر یک ۲ پیوند اشتراکی فسفودی‌استری شکسته می‌شود (*علاوه بر شکسته شدن پیوند فسفودی‌استر، در هر جایگاه تشخیص ۸ پیوند هیدروژنی هم به دنبال عمل EcoR۱ شکسته می‌شود*). پس در کل این ۶ جایگاه، ۱۲ پیوند اشتراکی از نوع فسفودی‌استر توسط این آنزیم برش داده شده است و با توجه به متن تست این برش‌ها مربوط به دیسک نبوده و در ژن اصلی خطی یاخته رخ داده است.

مرحلهٔ دوم: اتصال قطعهٔ DNA جدا کرده به ناقل همسانه‌ساز و تشکیل DNA نوترکیب (دست‌ورزی شده)

● تعریف ناقلین همسانه‌سازی

ناقلین همسانه‌سازی، مولکول‌های DNA (*رنایی*) می‌باشند که در **خارج از کروموزوم اصلی برخی جانداران** وجود دارند. این دناهای ناقل، توانایی این را دارند که هم مستقل از دنای میزبان و هم همراه میزبان تکثیر شوند. دقت کنید که این DNAها برای تکثیر شدن، به آنزیم‌های هلیکاز و دنابسپاراز میزبان خود وابسته هستند. پس **منظور از مستقل بودن آن‌ها، مستقل بودن همانندسازی آن‌ها از همانندسازی دنای اصلی می‌باشد. یعنی حتی هنگامی که میزبان آن‌ها در حال استراحت است و کروموزوم آن تقسیم نمی‌شود نیز می‌توانند تکثیر یابند** (*ولی همواره برای تکثیر شدن وابسته به آنزیم‌های میزبان می‌باشند.*)

نکته

همانندسازی ناقلین همسانه‌ساز، همانند تکثیر راکیزه و سبزدیسه‌ها می‌تواند مستقل از دنای اصلی میزبان صورت گیرد ولی آنزیم‌های مورد نیاز همانندسازی آن‌ها توسط میزبان تأمین می‌شود.

● دیسک (پلازمید)

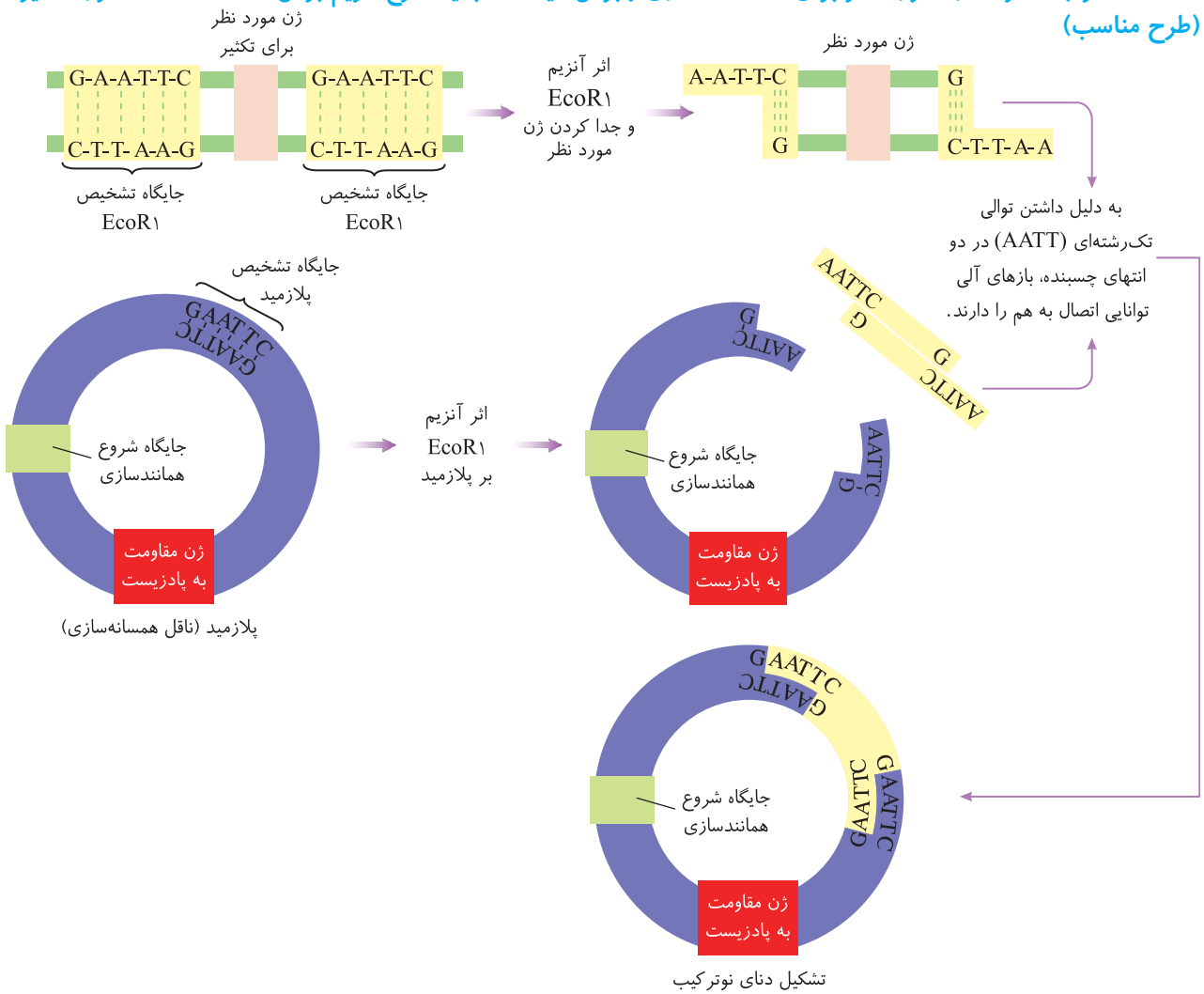
دیسک‌ها، یکی از مهم‌ترین ناقل‌های ژنی برای همسانه‌سازی می‌باشند. دیسک یا پلازمید، یک مولکول **DNA حلقوی دورشته‌ای** بوده که خارج از کروموزوم (*خم‌تن*) اصلی یاختهٔ میزبان می‌باشد. این مولکول **معمولاً درون باکتری‌ها یا بعضی قارچ‌ها مثل مخمرها** می‌باشد که مستقل از ژنوم میزبان همانندسازی می‌کند (*البته باز هم یادآوری می‌کنم که برای همانندسازی به هلیکاز و DNA پلیمراز میزبان خود وابسته‌اند*). **دیسک** (*پلازمید*) **را کروموزوم کمکی نیز می‌نامند چون حاوی ژن‌هایی می‌باشد که در کروموزوم اصلی میزبان خود وجود ندارند.** مثلاً **بسیاری** از دیسک‌ها ژن‌های مقاوم به انواعی از آنتی‌بیوتیک‌ها (*پادزیست‌ها*) دارند که سبب مقاومت میزبان خود به این مواد می‌شوند ولی این ژن در کروموزوم اصلی باکتری یا قارچ وجود ندارد. در حقیقت میزبان دارنده دیسک، توانایی **تغییر** آنتی‌بیوتیک‌ها را به موادی دارند که غیرکشنده شوند و قابل استفاده نیز باشند. این ویژگی دیسک‌ها در مقاومت به پادزیست‌ها، در مهندسی ژنتیک، **برای جدا کردن محصولات**، اهمیت زیادی دارد که در ادامه بررسی می‌کنیم.

«طرح ساده از یک دیسک حاوی ژن مقاومت به پادزیست»

بررسی مرحلهٔ دوم مهندسی ژنتیک

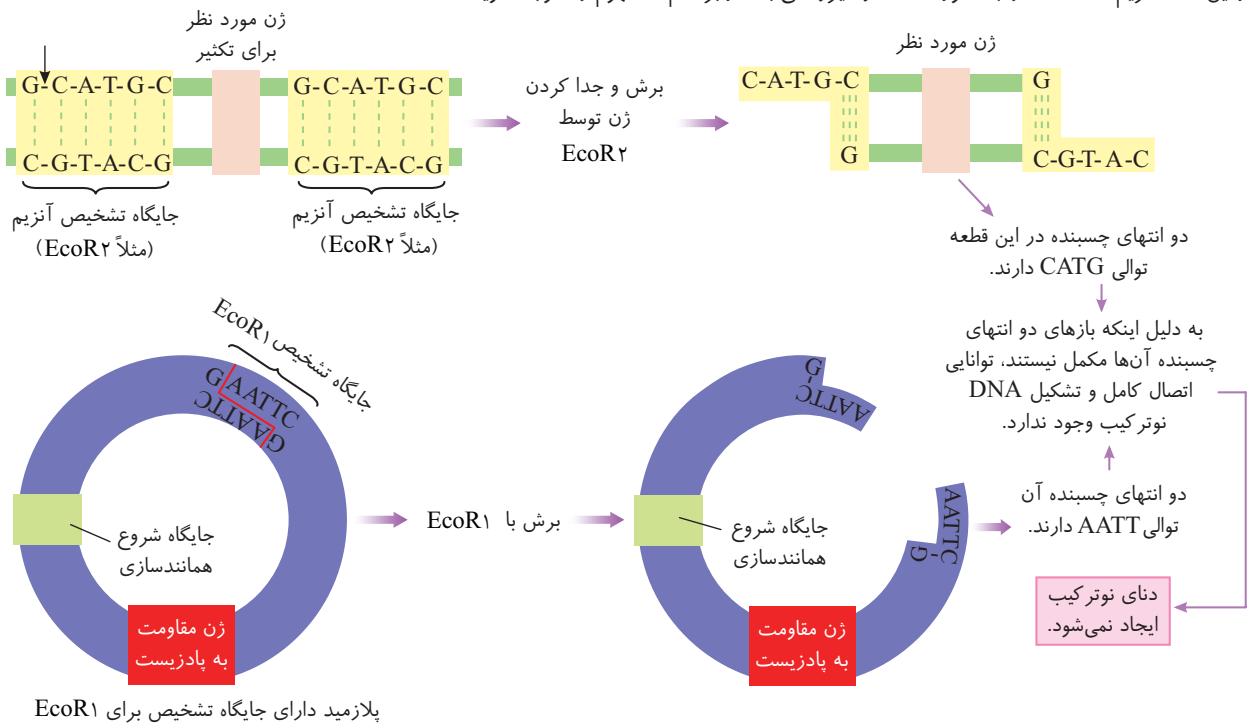
در این مرحله باید قطعه‌ای از دنا را که در مرحلهٔ اول با نوعی آنزیم برش‌دهنده جدا کرده‌ایم، به ناقل همسانه‌سازی متصل کنیم. حتماً قبول دارید که برای جدا کردن یک ژن یا یک قطعهٔ DNA از ژنوم، حداقل به دو جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده نیاز داشتیم. در این مرحله ابتدا باید دیسکی انتخاب کنیم که حتماً جایگاه تشخیصی برای **همان آنزیم برش‌دهنده‌ای** را داشته باشد که قطعهٔ DNA مورد نظر را با آن جدا کرده‌ایم. دلیل این کار نیز واضح است چون هدف ما اتصال قطعهٔ DNA مورد نظر به ناقل همسانه‌ساز می‌باشد، پس باید انتهای چسبنده آن‌ها دارای بازهای آلی مکملی باشند تا بتوانند با همدیگر **پیوند هیدروژنی** برقرار کنند. در ادامه دو طرح برای شما آورده‌ام تا دقیقاً متوجه شوید که چرا باید برای برش قطعهٔ دنای مورد نظر و دیسک، **از یک نوع آنزیم برش‌دهنده** استفاده کرد.

● الف) اگر جدا کردن ژن مورد نظر برای همسانه‌سازی و برش دیسک با یک نوع آنزیم برش‌دهنده EcoR1 صورت گیرد (طرح مناسب)



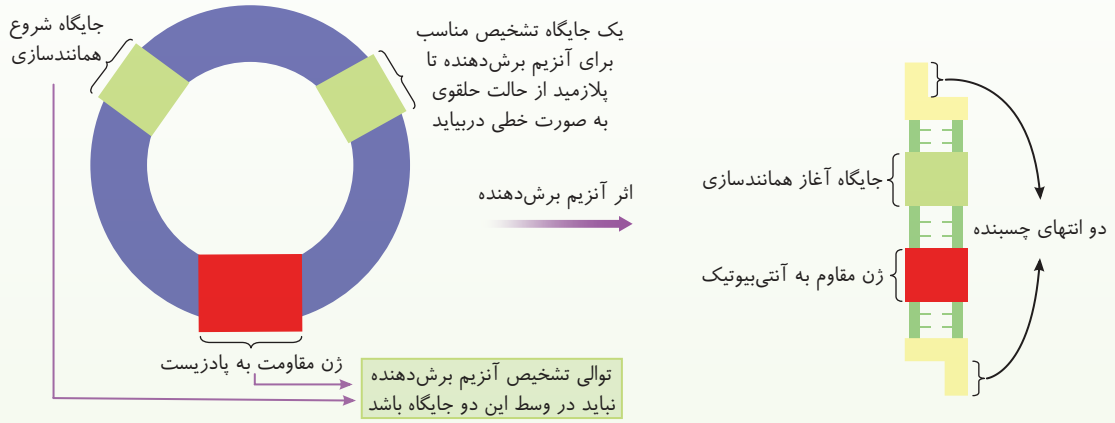
● ب) جدا کردن ژن مورد نظر و برش دیسک با دو نوع آنزیم EcoR۱ و EcoR۲ برش‌دهنده مختلف (طرح نامناسب)

◄ در این مثال آنزیم EcoR۲ را به صورت مثال و غیرواقعی به کار برده‌ام تا مفهوم را متوجه شوید!



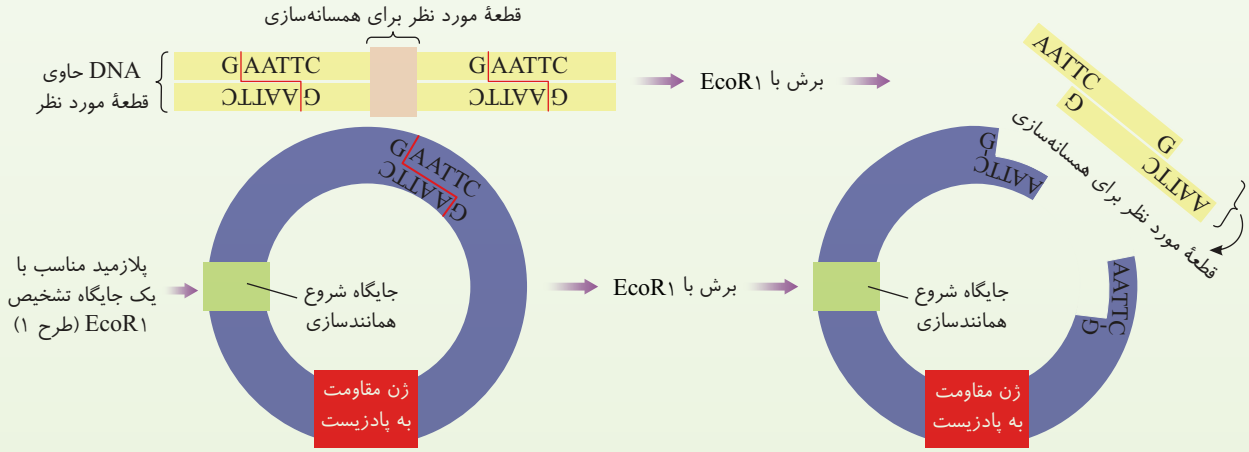
نکات مهم در بررسی تست‌ها

(۱) هر دیسک، معمولاً دارای **یک جایگاه شروع همانندسازی** و **ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک** می‌باشد. دقت کنید که باید دیسکی را انتخاب کنیم که جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده در وسط توالی ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک یا جایگاه شروع همانندسازی آن نباشد، چون در آن صورت اگر در وسط جایگاه شروع همانندسازی، جایگاه تشخیص آنزیم فوق وجود داشته باشد، با برش این جایگاه، همانندسازی دیسک متوقف می‌شود و ما را از هدف اصلی که ازدیاد ژن مورد نظر است دور می‌کند. از طرفی اگر در ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک نیز جایگاه تشخیص آنزیم برش‌دهنده وجود داشته باشد، در مرحلهٔ بعد از همسانه‌سازی ژن‌ها، نمی‌توانیم با اضافه کردن آنتی‌بیوتیک خاص، یاخته‌های دارای DNA نوترکیب را از سایر میزبان‌های محیط جدا کنیم.



(۲) در مهندسی ژنتیک، بهتر است از دیسکی استفاده کنیم که برای آنزیم برش‌دهنده مد نظر ما، **فقط** یک جایگاه تشخیص داشته باشد، چون در این صورت ژنی از دیسک جدا نمی‌شود و عمل آنزیم برش‌دهنده فقط سبب **خطی شدن ساختار حلقوی** آن می‌شود. اگر دیسک مورد نظر **بیش از یک جایگاه تشخیص آنزیم** داشته باشد، آن آنزیم با برش این چند جایگاه، قطعاتی را از آن جدا می‌کند که ممکن است اتصال ژن مورد نظر ما را به قطعه‌ای که هم‌زمان دارای جایگاه آغاز همانندسازی و ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک باشد به مشکل بیاندازد. *(به دو طرح زیر دقت کنید تا به مفهوم این نکته پی ببرید!)*

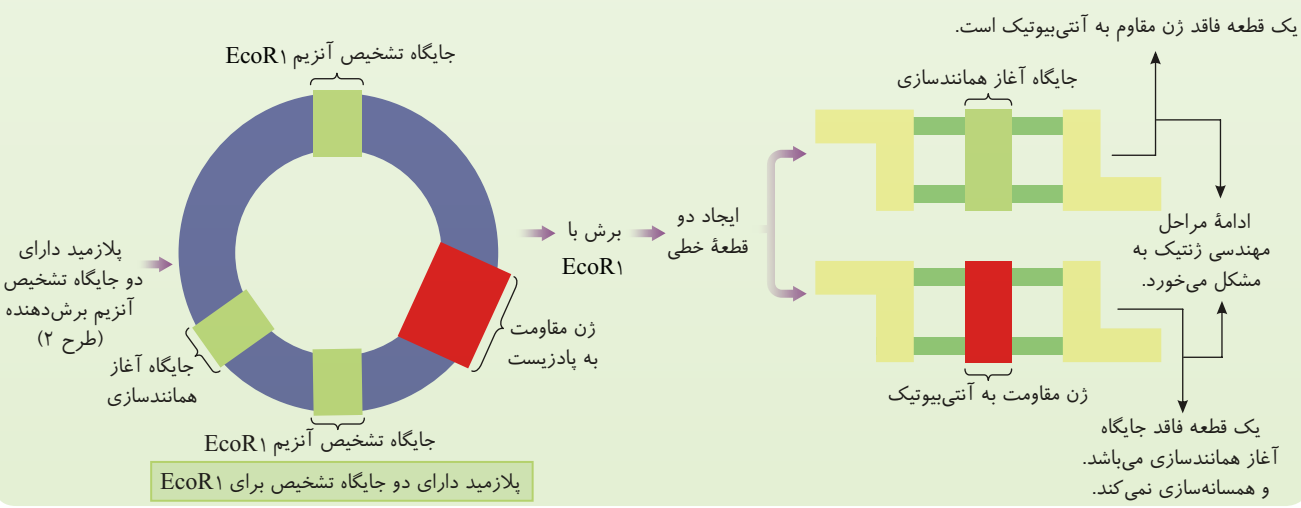
الف) دیسکی که فقط یک جایگاه تشخیص برای EcoR۱ دارد ⇐ (قطعه‌ای از دیسک جدا نمی‌شود)



پلازمید دارای فقط یک جایگاه تشخیص برای EcoR۱

در این حالت قطعه خطی شده پلازمید قطعاً جایگاه شروع همانندسازی و ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک را دارد.

ب) دیسکی که دو جایگاه تشخیص برای EcoR۱ دارد ⇐ (در این صورت دو قطعه دنا ایجاد می‌شود که ممکن است کارایی نداشته باشند)



پلازمید دارای دو جایگاه تشخیص برای EcoR۱

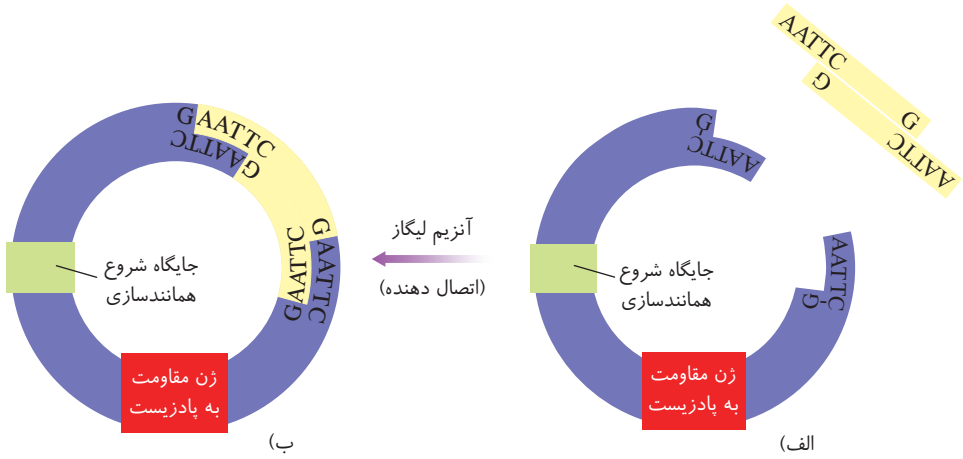
یک قطعه فاقد ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک است.

۳ در ادامهٔ مراحل مهندسی ژنتیک مشاهده خواهید کرد که وجود توأم جایگاه شروع همانندسازی و ژن مقاومت به پادزیست در ناقل ژنی ضروری می‌باشد.

● ادامه مرحلهٔ دوم مهندسی ژنتیک پس از برش دیسک

پس از آنکه با **یک نوع** آنزیم برش‌دهنده، جایگاه‌های تشخیص برای جدا کردن قطعهٔ DNA مورد نظر و مولکول ناقل ژنی (*دیسک*) را برش دادیم، حالا باید این دو قطعهٔ DNA خطی را به هم متصل کنیم. در حقیقت می‌خواهیم یک DNA نوترکیب یا دست‌ورزی شده بسازیم.

ابتدا باید قطعهٔ DNA (*ژنی*) حاوی توالی مورد نظر را در دنای (DNA) ناقل (*دیسک*) **جاسازی** کنیم. هر دو این قطعات هرکدام دارای دو توالی تک‌رشته‌ای در دو سر خود به نام انتهای چسبنده می‌باشند که **بازهای آلی مکملی با هم دارند**. وقتی هر دو انتهای چسبنده در کنار هم قرار می‌گیرند، ابتدا **خود به خود** بین بازهای آلی مکمل آن‌ها پیوند هیدروژنی برقرار می‌شود (*چون با یک نوع آنزیم برش‌دهنده، برش داده شده‌اند!*). سپس آنزیم **لیگاز** (*اتصال‌دهنده*) را به محیط آزمایش اضافه می‌کنیم. این آنزیم با تشکیل **چهار پیوند فسفودی‌استر** بین دو سر قطعهٔ دنای مورد نظر و ناقل ژنی، سبب تشکیل DNA نوترکیب یا دست‌ورزی شده می‌شود.



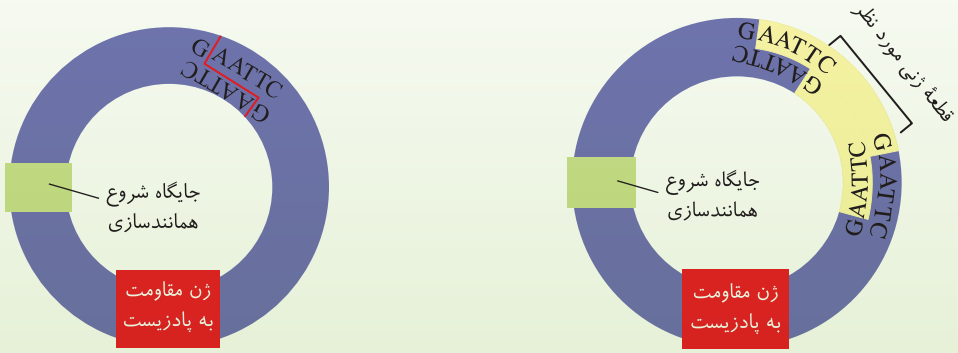
«تشکیل دنای نوترکیب: الف) قبل از تأثیر لیگاز، ب) بعد از تأثیر لیگاز»

نکته

تعداد نقاط آغاز همانندسازی در دیسک، همانند DNA اصلی باکتری معمولاً یک عدد می‌باشد ولی یادتان باشد که تعداد نقاط آغاز **رونویسی** در آن‌ها متعدد است. چون در پروکاریوت‌ها به ازای هر یک یا چند ژن مجاور، یک نقطهٔ آغاز رونویسی وجود دارد.

نکته

دیسک نوترکیب شده قطعاً حداقل دارای **دو جایگاه تشخیص** برای آنزیم برش‌دهنده واکنش می‌شود که در دو سمت قطعهٔ DNA مورد نظر وجود دارد.

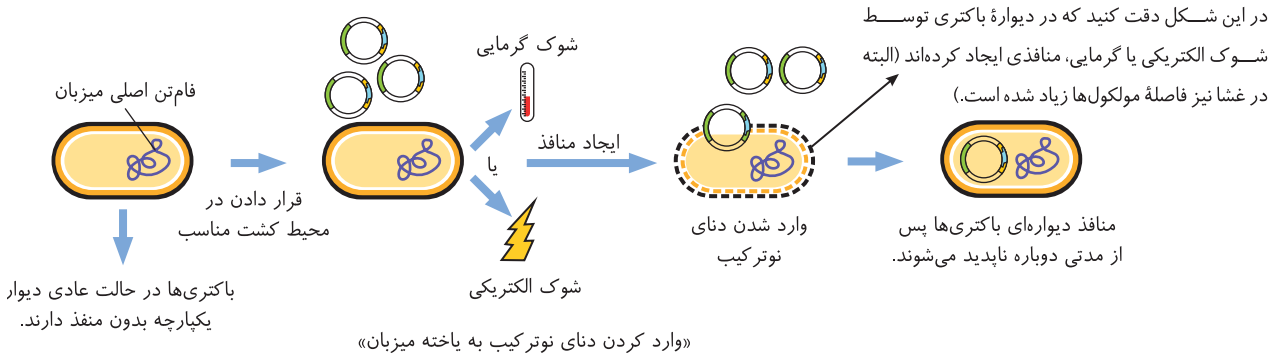


پلازمید نوترکیب دارای دو جایگاه تشخیص EcoR۱

پلازمید قبل از نوترکیب شدن که معمولاً یک جایگاه تشخیص دارد

مرحلهٔ سوم: وارد کردن DNA نوترکیب به یاخته میزبان

در این مرحله باید مولکول‌های DNA نوترکیبی که ساخته‌ایم را بتوانیم وارد **جاندار ساده‌ای مثل باکتری** کنیم که هم ورود دیسک را قبول کند (*چون همهٔ باکتری‌ها دیسک ندارند*) و هم قدرت **تکثیر سریعی** داشته باشد تا به سرعت مولکول‌های DNA نوترکیب را به نسل بعد خود نیز منتقل کند. همان‌طور که می‌دانید **اغلب** باکتری‌ها **دیوارهٔ** یاخته‌ای در اطراف غشای خود دارند. پس باید برای ورود DNA نوترکیب، **منافذی** در دیوارهٔ باکتری‌های محیط ایجاد شود. این منافذ معمولاً با کمک **شوک الکتریکی** یا **شوک حرارتی** و همراه با **مواد شیمیایی** دیگری ایجاد می‌شوند. **البته باید ابتدا باکتری‌ها و DNAهای نوترکیب را در محیط مناسبی قرار دهیم** تا از بین نروند و سپس شوک گرمایی یا الکتریکی را انجام دهیم تا منافذی در دیواره ایجاد شود. لازم به ذکر است که پس از ورود DNAهای نوترکیب به باکتری‌ها مشاهده شد که **مقدار کمی** از باکتری‌های محیط حاوی DNA نوترکیب شده‌اند که به آن‌ها **جاندار** یا **باکتری تراژنی شده** می‌گویند ولی **بیشتر باکتری‌های** محیط **فاقد** این مولکول‌های نوترکیب شده هستند. در مرحلهٔ بعد ابتدا باید بین این دو نوع باکتری دارای دنای نوترکیب و فاقد دنای نوترکیب تفکیک قائل شویم. (*این نکتهٔ آخر را در شکل مرحلهٔ بعد مشاهده خواهید کرد.*)

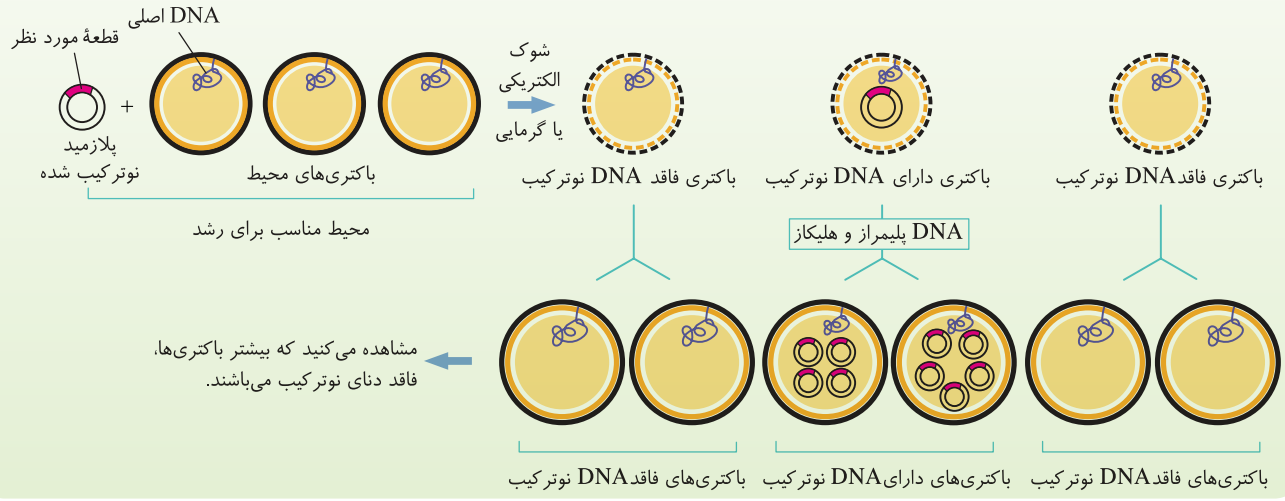


نکات مهم در بررسی تست‌ها

(۱) در این مرحله و پس از ورود DNA نوترکیب به برخی باکتری‌ها، سریعاً با استفاده از دستگاه همانندسازی میزبان، DNA نوترکیب به تعداد زیادی درون باکتری‌ها تکثیر یا همسانه‌سازی می‌شود. دقت کنید که با تقسیم دو تا شدن این باکتری‌ها، تعداد باکتری‌های دارای DNA نوترکیب نیز به تدریج بیشتر می‌شود.

(۲) ساخت DNA نوترکیب در **خارج از باکتری** توسط آنزیم **لیگاز** یا اتصال‌دهنده و با ایجاد **چهار پیوند فسفودی‌استر** صورت می‌گیرد ولی تولید و انبوه‌سازی (همسانه‌سازی) DNA نوترکیب در **درون باکتری** توسط سیستم همانندسازی هلیکاز و DNA بسپاراز (پلیمراز) باکتری صورت می‌گیرد که مطمئناً تعداد پیوندهای فسفودی‌استر زیادی برای تولید آن‌ها ایجاد می‌شوند.

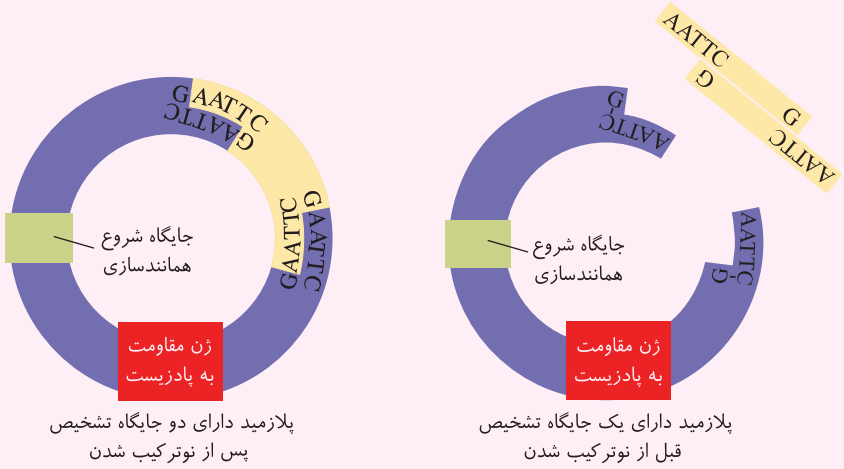
(۳) تنها آنزیم مورد نیاز و مؤثر روی پیوند هیدروژنی، هلیکاز برای همانندسازی درون باکتری یا میزبان دیگر می‌باشد.



تست ۵ **در مهندسی ژنتیک، معمولاً DNA نوترکیب ساخته شده از دیسک مناسب و ژن انسولین، در ساختار خود برخلاف دیسک اولیه، ..... دارد.**

۱) ژن مقاومت نسبت به نوعی پادزیست
۲) دو جایگاه تشخیص برای آنزیم برش‌دهنده واکنش
۳) جایگاه آغاز همانندسازی
۴) ژن سازندهٔ پروتئین مهارکننده

پاسخ ۲ دقت کنید که وقتی دیسک نوترکیب می‌شود، دیگر ۲ جایگاه در دو طرف ژن خارجی برای آنزیم برش‌دهنده دارد ولی ژن‌های مربوط به مقاومت به پادزیست و آغاز همانندسازی آن دست نخورده باقی مانده است. *(وقتی در تست عنوان کرده است که دیسک مناسب بوده است یعنی فقط یک جایگاه تشخیص برای برش‌دهنده داشته است.)*



تست ۶ پس از وارد کردن DNAهای نوترکیب به یاخته‌های میزبان، چند عمل زیر صورت می‌گیرد؟

الف) برش DNA ناقل و ژن مورد نظر با یک نوع آنزیم

ب) استفاده از محصولات برخی ژن‌های دیسکی پس از مرحلهٔ جدا کردن یاخته‌های تراژنی

ج) ایجاد شوک الکتریکی یا حرارتی برای تسریع در نفوذپذیر کردن میزبان‌ها

د) استفاده از آنتی‌بیوتیکی که ژن مقاومت نسبت به آن روی دیسک قرار دارد.

۱) ۲ مورد **۲)** ۱ مورد **۳)** ۴ مورد **۴)** ۳ مورد

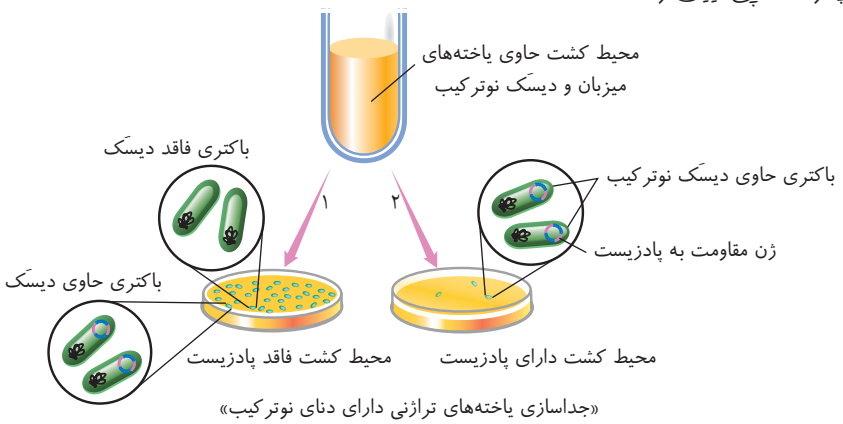
پاسخ ۱ موارد (ب) و (د) پس از ورود دنای نوترکیب به میزبان رخ می‌دهند.

تله‌های تستی الف) نادرست است. برش دنای ناقل ژنی و قطعهٔ حاوی ژن مورد نظر، قبل از ورود دنای نوترکیب به میزبان رخ می‌دهد. / ب) درست است. پس از جداسازی یاخته‌های تراژنی می‌توانیم از ژن‌های همسانه‌سازی شده در تولید محصولات مفید استفاده کنیم. / ج) نادرست است. شوک الکتریکی یا گرمایی قبل از ورود دنای نوترکیب به میزبان زده می‌شوند. / د) درست است. پس از ایجاد اولین یاخته‌های تراژنی باید پادزیست به محیط اضافه کنیم تا باکتری‌های فاقد دیسک نوترکیب از سایرین جدا شوند.

مرحلهٔ چهارم: جداسازی یاخته‌های تراژنی دارای DNA نوترکیب از سایر یاخته‌ها

در این مرحله باید باکتری‌های دارای DNA نوترکیب که ژن‌های مورد نظر ما نیز در آن‌ها وجود دارند و تکثیر شده‌اند را از سایر باکتری‌های فاقد DNA نوترکیب جدا کنیم. **مهم‌ترین تفاوت این دو نوع باکتری، داشتن یا نداشتن دیسک و ژن مقاومت به نوعی آنتی‌بیوتیک آن** (مثلاً آمپی‌سیلین) **می‌باشد**. البته در این مرحله همچنان همسانه‌سازی یا زیاد شدن ژن‌ها و قطعات مورد نظر ما ادامه دارد. دقت کنید که در شرایط مناسب، باکتری‌های دارای قطعهٔ مورد نظر یا تراژن شده نیز **به سرعت تکثیر** می‌شوند و DNAهای اصلی یا نوترکیب آن‌ها نیز **مستقلاً** در حال همانندسازی می‌باشند. در این مرحله با **روش‌های مختلفی** می‌توان باکتری‌های دارای DNA خارجی نوترکیب (یاخته‌های تراژن) را از باکتری‌های فاقد این ژن‌ها جدا کرد. **یکی** از این روش‌ها، **استفاده از آنتی‌بیوتیکی** (پادزیستی) **است که ژن مقاومت به آن روی دیسک نوترکیب وجود دارد**. اگر مثلاً این دیسک‌ها به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین مقاوم هستند، باید همین پادزیست (آنتی‌بیوتیک) را به محیط کشت اضافه کنیم. در شکل می‌توانید مشاهده کنید که پس از اضافه کردن این ماده، **بیشتر** باکتری‌های محیط از بین می‌روند و **فقط** آن‌هایی باقی می‌مانند که دیسک آن‌ها ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین دارد. **در حقیقت فقط باکتری‌هایی باقی می‌مانند که DNA نوترکیب با قطعهٔ DNA مد نظر ما را دارند.**

توجه مهم: با مشاهدهٔ شکل زیر می‌توان متوجه شد، هنگامی که هنوز به محیط، آنتی‌بیوتیک اضافه نشده است، **تعداد زیادی** باکتری وجود دارد (قسمت ۱) ولی هنگامی که در قسمت ۲ آنتی‌بیوتیک اضافه می‌کنیم، در محیط کشت **تعداد باکتری‌های کمی** باقی مانده‌اند که **همگی تراژنی** هستند و حاوی DNA نوترکیبی از دیسک و ژن‌های مورد نظر ما می‌باشند. (از مقایسهٔ دو ظرف (۱) و (۲) در طرح زیر متوجه می‌شویم که اغلب باکتری‌ها توسط پادزیست از بین رفته‌اند، چون اغلب باکتری‌ها، ژن مقاومت به پادزیست آمپی‌سیلین را نداشته‌اند.)



«جداسازی یاخته‌های تراژنی دارای دنای نوترکیب»

پس از این عمل نیز اگر شرایط محیط کشت مناسب باقی بماند، همچنان باکتری‌های تراژنی با سرعت بالا تکثیر می‌شوند که DNAهای نوترکیب درون آن‌ها نیز مستقل از کروموزوم اصلی متصل به غشا، در حال ساخت نسخه‌های متعددی از خود می‌باشند. با هر بار همانندسازی دنای نوترکیب، همسانه‌سازی قطعهٔ DNA مورد نظر ما نیز انجام می‌شود. حال تعداد زیادی باکتری تراژن با DNA خارجی حاوی قطعات مورد نظر ما وجود دارد که می‌توانیم از آن‌ها برای تولید فراورده آن ژن در اثر **رونویسی و ترجمه** استفاده کنیم (یعنی به میزبان فرصت بدهیم تا ژن یا ژن‌های مورد نظر ما را بیان کند و محصول آن‌ها را نیز به سادگی و سرعت بالا بسازد و آن‌ها را پس از استخراج، در موارد مختلف درمانی استفاده کرد، مثل هورمون انسولین در درمان دیابت‌ها). البته می‌توانیم **ژن‌های** مورد نظر تکثیر شده را با روش‌هایی خاص جدا کنیم و از آن در مواردی مثل **ژن‌درمانی** و... که در گفتارهای بعد می‌خوانیم، استفاده کنیم.

نکته

در عصر حاضر و با پیشرفت مهندسی ژنتیک می‌توانیم علاوه بر باکتری، یاخته‌های دیگری مثل **مخمرها** یا یاخته‌های **گیاهی** و **جانوری** را با این فرایندها تراژنی کنیم و تغییر ژنتیکی دهیم. **در این صورت می‌توانیم از DNA و یا محصولات آن‌ها برای اهداف گوناگون علمی و کاربردی استفاده کنیم.**

نکته

کتاب درسی میزبان دیسک را در فصل‌های قبل برای باکتری‌ها در نظر گرفته بود ولی در این فصل این مولکول‌ها را در برخی یوکاریوت‌ها مثل قارچ‌های مخمر نیز علاوه بر باکتری‌ها در نظر گرفته است. پس یاختهٔ دارای دیسک، می‌تواند حاوی ژنوم اصلی حلقوی یا خطی باشد.

درسنامه

گفتار ۲ فناوری مهندسی پروتئین و بافت

در گفتار قبل به بررسی مهندسی ژنتیک پرداختیم که هدف آن انبوه‌سازی یک یا چند ژن خاص یا محصول پروتئینی آن ژن‌ها بود. دقت کنید که **در مهندسی ژنتیک تغییری در ژن‌های جدا شده یا محصول آن‌ها ایجاد نمی‌کنیم** و فقط همسانه‌سازی یا انبوه‌سازی آن‌ها صورت می‌گیرد ولی در این گفتار به بررسی مهندسی پروتئین می‌پردازیم و می‌خواهیم ابتدا با تغییر در ژن، در نهایت در توالی آمینواسیدی پروتئین‌ها و در حقیقت در ساختار آن‌ها تغییر ایجاد کنیم و پروتئین‌هایی با **ساختار و ویژگی جدید** ایجاد کنیم. برای این کار ابتدا نیازمند به شناخت کامل از **ساختار و عملکرد** اولیه آن پروتئین داریم. پروتئین جدیدی که با مهندسی پروتئین ساخته می‌شود می‌تواند ویژگی‌های **مفیدی** مثل **پایداری و مقاومت بیشتر به گرما و تغییرات pH** داشته باشد و یا مثلاً تغییر در آنزیم‌ها می‌تواند سبب افزایش حداکثری سرعت واکنش‌ها و تمایل بیشتر آن‌ها برای اتصال به پیش‌ماده شود.

نکات مهم در بررسی تست‌ها

۱) از این پاراگراف نتیجه گرفته می‌شود که هر تغییر در ساختار طبیعی پروتئین‌ها، لزوماً سبب کاهش عملکرد آن‌ها نمی‌شود. بلکه در برخی موارد می‌توان پروتئین فعال‌تر و پایدارتر نیز ایجاد کرد.

۲) در روش مهندسی پروتئین نیز با فعالیت هوشمندانهٔ آدمی، ابتدا دستکاری در توالی ژن سازندهٔ پروتئین خاص را انجام می‌دهند و سپس ژن‌های حاصل را در یک موجود زنده بیان می‌کنند تا پروتئین دلخواه را ایجاد کنند.

۳) انواع تغییرات روی پروتئین‌ها در اثر مهندسی پروتئین
- ۱) تغییرات جزئی
  - این تغییر در یک یا چند رمز DNA برای ایجاد پروتئین جدید انجام می‌دهند.
  - تغییری است که یک یا چند آمینواسید پروتئین را تغییر می‌دهد.
  - ساختار اول تا چهارم پروتئین را تغییر می‌دهد.
- ۲) تغییرات عمده
  - تغییرات گسترده‌ای شامل برداشتن قسمتی از ژن سازنده می‌باشد.
  - یا تغییراتی مثل ترکیب بخش‌هایی از ژن سازنده چند نوع پروتئین می‌باشد.
  - در این تغییرات توالی بخش زیادی از پروتئین را تغییر می‌دهند.
  - در این نوع تغییرات نیز کل ساختار پروتئین عوض می‌شود.

۴) در تغییرات گسترده مهندسی پروتئین، قسمتی از ژن سازنده پروتئین را تغییر می‌دهیم یا بخش‌هایی از ژن‌های چند نوع پروتئین مختلف را با هم ترکیب می‌کنیم تا محصولات آن که همان پروتئین جدید مد نظر می‌باشد در اثر بیان ژن‌های جدید، ساخته شوند ولی در تغییرات جزئی، یک یا چند نوکلئوتید در ژن به‌طور هوشمندانه و با مداخلهٔ آدمی دچار تغییر می‌شود.

۵) در تست‌ها دقت کنید، به‌طور مثال اگر مقصود ساخت انسولین برای تنظیم قند خون بود، این مهندسی ژنتیک است ولی اگر عنوان کرد که انسولینی بسازیم که سریع‌تر از حالت عادی قند خون را تنظیم کند، این بحث مهندسی پروتئین است.

افزایش پایداری پروتئین‌ها

امروزه در اغلب دستگاه‌ها و روش‌های صنعتی نیاز به **سرعت بالای واکنش** و **کم کردن خطر آلودگی آن‌ها** می‌باشد. از طرفی خیلی از واکنش‌ها، به ویژه **انواع گرمازا** نیاز به وسایل خنک‌کننده دارند تا آنزیم‌های واکنش در دمای بالا از بین نروند. چون می‌دانیم که اغلب پروتئین‌ها در دمای بالا تغییر شکل داده و فاقد فعالیت می‌شوند. در حال حاضر با روش‌های مهندسی پروتئین، **انواعی** از آنزیم و پروتئین‌ها را ایجاد کرده‌اند که **در مقابل گرما، پایدارترند** و در دمای بالا نیز حفظ می‌شوند. این پروتئین‌ها در دمای بالای موجود در صنعتی از بین نمی‌روند و دیگر نیازی به دستگاه خنک‌کننده که بسیار هزینه‌زا می‌باشد وجود ندارد. از طرفی دمای بالای آزمایش، **هم سرعت واکنش‌های** این آنزیم‌های مصنوعی را **بالا** می‌برد و هم از طرفی میکروب‌های واکنش نیز در دمای بالا از بین می‌روند و آلودگی میکروبی محیط کم می‌شود و در آخر تکرار می‌کنم که با عدم نیاز به سیستم‌های خنک‌کننده، در مصرف انرژی نیز صرفه‌جویی می‌شود.

نکته

استفاده از پروتئین تولید شده در مهندسی پروتئین
- ۱) مقاومت آن در دمای بالا، بیشتر می‌شود.
- ۲) خطر احتمال رشد میکروب‌ها در آزمایشگاه کم می‌شود.
- ۳) انرژی مصرفی برای خنک کردن واکنش کم می‌شود.

مثال‌هایی از پروتئین‌های تولید شده با مهندسی پروتئین همراه با افزایش پایداری آن‌ها

۱) آمیلازهای پایدار و مقاوم به گرما

آمیلاز یکی از آنزیم‌های **پرکاربرد** در صنعت مثل صنایع **غذایی**، **نساجی** و **تولید شوینده‌ها** می‌باشد که مولکول‌های نشاسته را با هیدرولیز به قطعات کوچک‌تری تجزیه می‌کند. این آنزیم به‌طور طبیعی در **غدد بزاقی و لوزالمعده انسان** تولید می‌شود و نشاسته درون دهان و رودهٔ باریک را هیدرولیز می‌کند. نوع طبیعی این آنزیم، به دماهای بالا حساس می‌باشد. البته انواعی از آمیلازهای مقاوم و پایدار به گرما نیز به‌طور **طبیعی** در **باکتری‌های گرمادوست** (*ترموفیل*) موجود در **چشمه‌های آب گرم** وجود دارند. از آنجا که **بسیاری** از مراحل تولید صنعتی در دماهای بالا انجام می‌شود، محققین زیست‌فناوری به فکر طراحی و تولید آمیلازهای مقاوم به گرما افتادند و امروزه تولید آن‌ها ممکن شده است. استفاده از این آمیلازها، سبب: **۱) کاهش زمان واکنش هیدرولیز نشاسته، ۲) صرفه‌جویی اقتصادی در عدم استفاده از خنک‌کننده‌های واکنش‌ها، ۳) افزایش بهره‌وری صنعتی با تولید بیشتر محصول شده است.**

نکته

آمیلاز بزاق و لوزالمعدهٔ انسان که به‌طور طبیعی تولید می‌شوند، در حفرهٔ دهانی و رودهٔ باریک قدرت هیدرولیز نشاسته به دی‌ساکارید مالتوز و مولکول‌های درشت‌تر قندی دارند ولی مونوساکارید ایجاد نمی‌کنند.

نکته

در روش مهندسی پروتئین با تغییراتی در ژن تولید آمیلاز، سبب تولید آمیلازهایی با مقاومت بیشتر در دمای بالا می‌شوند.

۲) تولید اینترفرون‌های پایدارتر

همان‌طور که می‌دانید در بدن، اینترفرون‌های مختلفی در حمله به **یاخته‌های آلوده به ویروس** یا **یاخته‌های سرطانی** می‌توانند تولید شوند. اینترفرون‌های **طبیعی**، ایمنی غیرفعال (*با مدت کم*) می‌دهند چون پایداری زیادی ندارند.

الف) تولید اینترفرون با مهندسی ژنتیک: در ابتدا محققین زیست‌فناوری به فکر تولید اینترفرون با استفاده از **مهندسی ژنتیک** افتادند و موفق شدند **اینترفرونی همانند نوع طبیعی** ایجاد کنند ولی همواره دیده می‌شد که فعالیت اینترفرون‌های تولید شده با مهندسی ژنتیک **بسیار کمتر** از نوع طبیعی بود چون در هنگام بیان ژن‌های آن‌ها در **باکتری** و شکل‌گیری کامل این پروتئین، **پیوندهای نادرستی** در هنگام تولید اینترفرون‌ها ایجاد می‌شود و این پیوندهای نامناسب، سبب ایجاد اینترفرونی با **شکل غیرعادی** می‌شود که فعالیت آن‌ها را کاهش می‌دهد.

نکته

اینترفرون تولید شده با روش **مهندسی ژنتیک**، توالی آمینواسید جدیدی ندارد ولی به دلیل پیوندهای نامناسب بین واحدهای سازنده، شکل غیرعادی با فعالیت کمتر ایجاد می‌کند.

نکته

در اینجا منظور اینترفرون نوع ۱ می‌باشد که فعالیت ضدویروسی دارد.

ب) تولید اینترفرون با مهندسی پروتئین: پس از عدم کارایی مناسب اینترفرون‌هایی که با مهندسی ژنتیک تولید شدند، محققین زیست‌فناوری به سوی تولید این پروتئین با روش مهندسی پروتئین رفتند و موفق شدند با **تغییر جزئی** و جابه‌جا کردن **رمز ژنتیکی** ایجادکننده **یک** آمینواسید به جای نوع دیگری، توالی آمینواسیدی اینترفرون را طوری تغییر دهند که هم فعالیت ضد ویروسی این اینترفرون را **به اندازهٔ** اینترفرون طبیعی رساندند (*نه اینکه فعالیت آن بیشتر شد!*) و **هم مشاهده کردند که این پروتئین از نوع طبیعی آن پایدارتر می‌باشد.** این اینترفرون‌های ایجاد شده با مهندسی پروتئین **چون پایداری و طول عمر بیشتری** دارند، برای استفاده **دارویی** بسیار مناسب می‌باشند.

نکته

انواع روش تولید اینترفرون
- طبیعی ← در یاخته‌های آلوده به ویروس یا سرطانی تولید می‌شود.
- با مهندسی ژنتیک ← به دلیل پیوندهای نامناسب فعالیت کمتری دارند.
- با مهندسی پروتئین ← در اثر تغییر جزئی در ژن ایجاد شده‌اند که فعالیت ضد ویروسی آن‌ها به اندازهٔ نوع طبیعی می‌باشد ولی پایداری و طول عمر طولانی‌تری دارد (*این اینترفرون نوع ۱ می‌باشد*).

انواع اینترفرون طبیعی
- پروتئین‌های دفاع غیراختصاصی برای مقابله با ویروس‌ها یا یاختهٔ سرطانی می‌باشند.
- نوع ۱
  - از یاختهٔ آلوده به ویروس ترشح می‌شود.
  - علاوه بر یاخته‌های آلوده، یاخته‌های سالم مجاور را نیز در برابر ویروس مقاوم می‌کند.
  - سبب افزایش فعالیت بیگانه‌خوارها نمی‌شود.
- نوع ۲
  - از یاخته‌های کشندهٔ طبیعی و لنفوسیت T ترشح می‌شود.
  - درشت‌خوارها را فعال می‌کند و در مبارزه با سرطان نقش مهمی دارد.

● ۳) تولید پلاسمین پایدارتر و بادوام‌تر

همان‌طور که در زیست دهم خواندید هنگامی که رگی تخریب می‌شود، بدن با ایجاد لخته که حاصل تجمع رشته‌های **فیبرین و یاخته‌های خونی** است، مانع ادامهٔ خونریزی می‌شود. این عمل یک فرایند زیستی مهم برای جلوگیری از اتلاف و از بین رفتن خون می‌شود. در برخی موارد در سرخرگ‌های مهمی مثل **شش، مغز و ماهیچه قلب** نیز لخته‌هایی تشکیل می‌شوند که اگر منجر به بسته شدن رگ‌ها شوند بسیار خطرناک بوده و سبب عدم خون‌رسانی به شش‌ها یا سکتهٔ مغزی و قلبی و حتی مرگ می‌شود. در **پلاسمای** بدن در حالت **طبیعی** ماده‌ای به نام **آنزیم پلاسمین** وجود دارد که می‌تواند **لخته‌ها را تجزیه کرده** و مانع بسته شدن مسیر رگ‌ها شود. پلاسمین طبیعی کاتالیزوری **بی‌دوام** است و در مدت **خیلی کوتاهی** در پلاسما غیرفعال می‌شود ولی در بدن **خاصیت درمانی** دارد.

در روش **مهندسی پروتئین**، یک تغییر **جزئی** در این پروتئین ایجاد می‌کنند به‌طوری که **یک آمینواسید آن را با نوع دیگری** عوض می‌کنند که سبب **پایداری بیشتر این ماده** در **پلاسما** شده و اثرات **درمانی** آن نیز دارای مدت **طولانی‌تری** می‌شود.

نکات مهم در بررسی تست‌ها

(۱) در مکانیسم انعقاد خون، ترومبین سبب تبدیل فیبرینوژن محلول به رشته‌های نامحلول فیبرین و کمک به ایجاد لخته می‌شود ولی پلاسمین‌ها با تجزیه رشته‌های فیبرینی سبب حل کردن لخته و جلوگیری از بسته شدن رگ می‌شوند.

(۲) در مهندسی پروتئین برای تولید اینترفرون و پلاسمین، فقط یک رمز سه حرفی در توالی اگزون ژن سازندهٔ آن را تغییر می‌دهند و سپس با همسانه‌سازی ژن و تولید پروتئین مورد نظر، با استخراج، از آن استفادهٔ دارویی می‌کنند.

مهندسی پروتئین	مقایسه با نوع طبیعی
آمیلاز	صرفه‌جویی اقتصادی و کاهش زمان واکنش - تولید محصولات بیشتر
اینترفرون	فعالیتی به اندازهٔ نوع طبیعی دارد ولی پایداری بیشتر و اثر دارویی دارد.
پلاسمین	مدت زمان فعالیت پلاسمایی (پایداری) و اثرات درمانی بیشتری دارد.

توجه: در تست‌ها به کلمات مهندسی **ژنتیک** یا مهندسی **پروتئین** دقت کنید.

(۳) مثلاً در بیماری کم‌خونی داسی‌شکل، از ژن‌های فرد بیمار استفاده کنیم و هموگلوبین داسی‌شکل بسازیم، مهندسی ژنتیک می‌باشد چون تغییری در ژن نداده‌ایم ولی اگر از ژن‌های فرد بیمار، بتوانیم هموگلوبین طبیعی بسازیم، یعنی با مهندسی پروتئین، در ژن تغییر ایجاد کرده‌ایم.

تست ۷ **در مورد اینترفرونی که فعالیت بسیار کمتری از نوع طبیعی دارد و با روش‌های زیست‌فناوری ایجاد شده است، کدام گزینهٔ زیر علت آن را صحیح نشان می‌دهد؟**

۱) آنزیم لیگاز سبب ایجاد پیوندهای نادرست در آن شده است.

۲) تغییرات گسترده‌ای در ژن سازندهٔ آن رخ داده است.

۳) تغییر شکل در مولکول ساخته شده و عدم فعالیت آن.

۴) تشکیل پیوندهای نادرست توسط کاتالیزورهای زیستی پروکاریوتی

پاسخ ۴ منظور سؤال اینترفرون تولید شده با مهندسی **ژنتیک** توسط **باکتری** می‌باشد که پیوندهای **نادرست** که در هنگام **ترجمهٔ** آن در باکتری ایجاد شده است و به همین دلیل سبب این کاهش شدید فعالیتی شده است.

تله‌های تستی گزینهٔ (۱): آنزیم لیگاز در اتصال دو قطعه ژن نقش دارد نه در تولید پروتئین در حین ترجمه!! / گزینهٔ (۲): در مهندسی ژنتیک، ژن جدا شده را برخلاف مهندسی پروتئین، بدون تغییر به ناقل ژنی اضافه می‌کنیم. / گزینهٔ (۳): فعالیت این اینترفرون به صفر نرسیده است ولی بسیار کمتر از نوع عادی می‌باشد.

تست ۸ **برای تولید کدام‌یک از موارد زیر در زیست‌فناوری، آنزیم برش‌دهنده و دنای ناقل در همسانه‌سازی ژن بدون تغییر و نوعی پروتئین مفید عمل کرده است؟**

۱) اینترفرونی که قدرت ضد ویروسی به اندازهٔ نوع طبیعی داشت.

۲) پلاسمینی که پایداری بیشتری از نوع عادی دارد.

۳) اینترفرونی که فعالیت بسیار کمتری از نوع طبیعی داشت.

۴) آمیلازی که به گرما مقاوم‌تر می‌باشد.

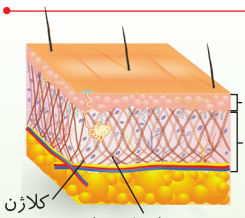
پاسخ ۳ در این تست باید در قسمتی از سؤال دقت کنید که ذکر کرده **«ژن بدون تغییر»** را در زیست‌فناوری وارد کرده‌ایم که منظور **مهندسی ژنتیک** می‌باشد تا ژن یا محصولی را انبوه‌سازی کنند. چون در مهندسی پروتئین قطعاً می‌خواهند پروتئینی با فعالیت جدید ایجاد کنند و تغییر در ژن الزامی است. در بین گزینه‌ها فقط گزینهٔ (۳) محصولی است که با مهندسی ژنتیک ایجاد می‌شود.

مهندسی بافت

در حال حاضر یکی از مشکلات اجتماعی و اقتصادی خانواده‌ها، درمان افرادی می‌باشد که در اثر **آسیب یا بیماری** دچار از دست رفتن بافتی یا اندامی خاص در بدن شده‌اند. این افراد علاوه بر زندگی دشوار به دلیل عدم توانمندی فردی به اطرافیان خود نیز آسیب فراوان **مادی و اجتماعی** وارد می‌کنند. همواره **بهترین** راه درمان و مرمت برای فردی که در اثر سوختگی، دچار اشکال در پوست خود شده بود، گرفتن پوست از فرد دیگر و **پیوند پوست** می‌باشد. اشکال این است که همیشه فرد اهداکننده پوست مناسب وجود ندارد و یا در برخی موارد در اثر سوختگی وسیع، امکان برداشت پوست از فرد آسیب دیده و جانشینی آن با پوست فرد اهداکننده وجود ندارد. در این حالت، بهترین راه برای درمان این افراد، **کشت بافت مورد نظر و پیوند پوست** می‌باشد که با روش **مهندسی بافت** اجرا می‌شود. در این روش باید بافت مورد نظر را به کمک **یاخته‌های بنیادی تمایز نیافته** در محیط کشت ایجاد کنیم. امروزه ثابت شده است که در **پوست**، یاخته‌هایی **تمایز نیافته** یا با **تمایز کم** وجود دارند که از یک طرف **قدرت تکثیر فراوان** دارند و از طرفی **توانایی تمایز** به انواع مختلف یاخته‌های پوششی، پیوندی و غیره موجود در پوست را دارند. **به‌طور کلی، در حال حاضر مهندسین بافت با جدا کردن یاخته‌های تمایز نیافته پوستی و تکثیر و تمایز آن‌ها در محیط کشت می‌توانند بافت‌های مختلف پوست را ایجاد کنند و در ترمیم افراد مورد نیاز استفاده کنند.**

نکات مهم در بررسی تست‌ها

(۱) از زیست یازدهم به یاد دارید که پوست یک اندام است که لایه‌های بیرونی از بافت پوششی و لایه‌های درونی با بافت پیوندی رشته‌ای محکم و بادوام دارد که رشته‌ها به‌طور محکم به هم تابیده هستند و سدی محکم و غیرقابل نفوذ می‌باشد.



«لایه‌های مختلف پوست»

(۲) روش‌های مختلف زیست‌فناوری نوین

۱) در مهندسی ژنتیک ← ژن و محصول مورد نظر را بدون تغییر، به همان صورت انبوه‌سازی می‌کنیم.

۲) در مهندسی پروتئین با تغییر جزئی ← در ژن ایجادکنندهٔ پروتئین تغییر جزئی در حد یک یا چند رمز آمینواسید ایجاد می‌کنیم تا پروتئینی با ویژگی جدید ایجاد شود.

۳) در مهندسی پروتئین به صورت تغییر گسترده ← بخشی از ژن پروتئین‌ساز یا ترکیب ژن‌ها را تغییر داده و محصول جدید با ویژگی جدید ایجاد می‌کنیم.

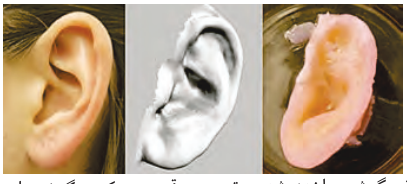
۴) در مهندسی بافت ← از یاخته **تمایز نیافته** در تولید بافت و اعضا استفاده می‌کنیم (*یعنی تعویض ژن بین دو یاخته نداریم*).

روش کار مهندسی بافت

محققین این روش یاخته‌های **تمایز نیافته** یا **بنیادی** را از **جنین یا بافت بالغ** جدا می‌کنند و با تکثیر و تمایز آن‌ها در محیط کشت، انواع مختلف بافت‌ها و اعضا را می‌سازند و از آن‌ها در درمان یا بازسازی اعضای افراد استفاده می‌کنند. در حال حاضر متخصصان مهندسی بافت با استفاده از یاخته‌های بنیادی تمایز نیافته جنینی یا بالغ می‌توانند در زمینهٔ **تولید و پیوند اعضا** نیز فعالیت کنند.

بازسازی لاله گوش در روش مهندسی بافت

در حال حاضر جراحان بازسازی‌کنندهٔ چهره از **بافت غضروف** که نوعی بافت **پیوندی** می‌باشد برای **بازسازی لاله گوش و بینی** (*نوک بینی از بافت غضروفی می‌باشد*) استفاده می‌کنند. در این روش ابتدا یاخته‌های غضروفی را از بدن جدا کرده و در محیط کشت و **روی داربست مناسب**، وادار به تکثیر و تولید غضروف‌های جدید می‌کنند. از این غضروف‌ها در مرمت لاله گوش یا نوک بینی استفاده می‌کنند.


غضروف گوش ساخته شده با روش مهندسی بافت بعد از دو هفته — تصویر رقمی (دیجیتالی) — عکس گوش طبیعی
«مهندسی بافت غضروف گوش انسان»

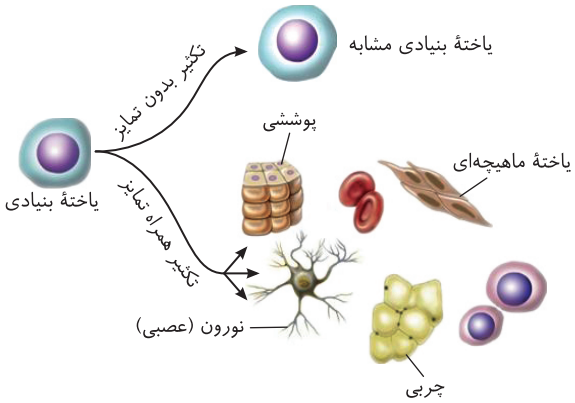
نکات مهم دربارهٔ یاخته‌های بنیادی و مهندسی بافت

۱) یاخته‌هایی مثل یاخته‌های عصبی (*نورون‌ها*) و ماهیچه‌ای که از یک طرف **تمایز یافته‌اند** و از طرفی **فاقد قدرت تکثیر** می‌باشند یا قدرت **تکثیر اندکی** دارند، نمی‌توانند در تولید سایر بافت‌ها در مهندسی بافت به کار روند. به همین دلیل در مهندسی بافت از یاخته‌هایی با قدرت تکثیر زیاد مثل یاخته‌های **بنیادی جنینی** (*در تولید مورولا و بلاستولا*) یا یاخته **بنیادی بالغ** موجود در **بافت‌ها** استفاده می‌کنند تا با تکثیر آن‌ها، انواع مختلف یاخته و بافت ایجاد شود.

۲) در مهندسی ژنتیک و مهندسی پروتئین ابتدا باید ژن خاصی را با ناقل ژنی در یک موجود میزبان وارد کرد تا به تولید محصول بپردازد با این تفاوت که در مهندسی ژنتیک، ژن جدا کرده را تغییر نمی‌دهیم تا همان ژن یا محصول، انبوه‌سازی شود ولی در مهندسی پروتئین باید ژن تغییر یافته را در موجود زنده بیان کنیم. در مهندسی بافت معمولاً نیازی به جدا کردن ژن و ناقل ژنی نمی‌باشد بلکه باید یاختهٔ بنیادی را جدا کنیم تا با کشت آن سبب تولید یک بافت یا یاخته‌های متنوع شود.

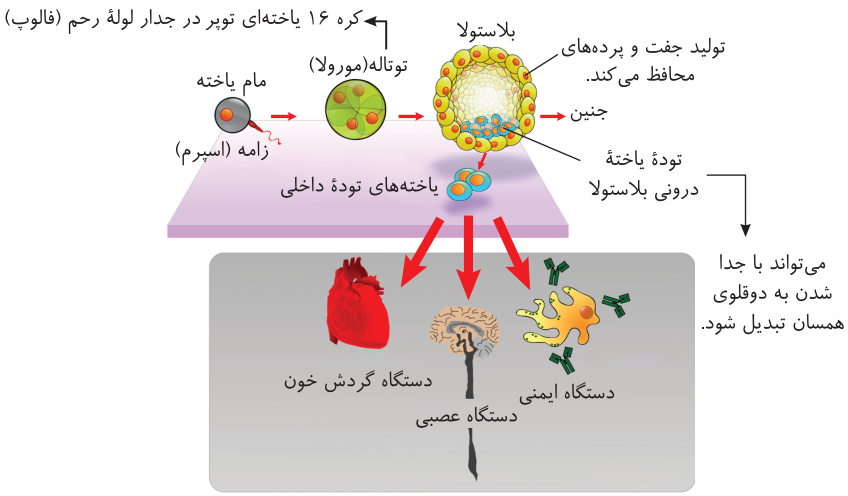
ویژگی یاخته‌های بنیادی در مهندسی بافت

- یاخته‌های بنیادی قدرت **تقسیم زیادی** دارند و **تمایز نیافته‌اند**، یعنی همه یا اکثر ژن‌های آن‌ها می‌توانند فعال شده و بیان شوند. این یاخته‌ها می‌توانند در اثر **تکثیر** به یاخته‌هایی **بنیادی** مشابه خود و در اثر **تمایز** به انواع مختلف یاخته‌های تمایز یافته تبدیل شوند.
- در شکل مقابل می‌توانید انواع مختلف یاخته‌های پوششی، پیوندی، ماهیچه‌ای و عصبی را از یک یاختهٔ بنیادی مشاهده کنید **ولی دقت کنید که یاختهٔ بنیادی همواره در اثر تکثیر مقداری نیز یاختهٔ بنیادی می‌سازد** تا همواره در بدن مقداری یاختهٔ بنیادی حفظ شود.



انواع یاخته‌های بنیادی ← **الف) یاخته‌های بنیادی جنینی**

- اغلب همان یاخته‌های تودهٔ درونی بلاستولا (*بلاستوسیت*) در جدار رحم می‌باشند.
- این یاخته‌ها در حالت طبیعی در اثر تکثیر و تمایز، در بدن مادر به همه انواع یاخته‌ها و بافت‌های بدن یک نوزاد طبیعی تبدیل می‌شوند.
- اگر یاخته‌های بنیادی تودهٔ درونی بلاستولا در **مراحل اولیه جنینی** درون رحم جداسازی شوند، می‌توانند دو جنین کامل تشکیل دهند و تولید دوقلوی همسان کنند.
- اگر یاخته‌های بنیادی جنینی را جداسازی کرده و سپس کشت بدهیم، می‌توانیم آن‌ها را برای ساخت **بسیاری** از انواع یاخته‌ها تحریک کنیم.
- البته دقت کنید که هنوز محققین نتوانسته‌اند در **شرایط آزمایشگاهی**، همهٔ بافت‌ها و اندام‌های بدن جنین طبیعی را با تکثیر این یاخته‌های بنیادی ایجاد کنند.
- یاخته‌های بنیادی مورولا در حالت طبیعی در بدن مادر، به **همه** انواع یاخته‌های جنینی (*بدن نوزاد*) و خارج جنینی (*جفت و پرده‌های اطراف جنین*) متمایز می‌شوند ولی جدا کردن همین یاخته‌ها در آزمایشگاه نتایج کاملاً یکسانی نمی‌دهد.



- یاخته‌های **بنیادی** توده داخلی از بلاستولا به انواع یاخته‌های جنینی متمایز می‌شوند ولی جفت و پرده‌های اطراف خارج جنینی را نمی‌سازند.

نکته

با توجه به مطالب فوق، نتیجه می‌گیریم که اگر **یاختهٔ بنیادی جنینی** را در مرحلهٔ **مورولا** (*توتاله*) جدا کنیم و کشت دهیم، این یاخته **توانایی** تبدیل شدن به هر نوع بافت یک فرد کامل و حتی پرده‌های اطراف جنین (*خارج جنینی*) را دارد و انواع مختلفی از یاخته‌ها از آن ایجاد می‌شود. البته لازم به ذکر است که در آزمایشگاه، با تمایز یاخته‌های بنیادی جنینی، **نمی‌توان** به همهٔ انواع یاخته‌ها و بافت‌های جنینی رسید.

نکته

یاخته‌های بنیادی درون تودهٔ داخلی بلاستولا، در صورت تمایز به بافت‌های مختلف جنینی تبدیل می‌شود ولی سبب ایجاد پرده‌های جنینی و جفت نمی‌شود.

ب) یاخته‌های بنیادی بالغ

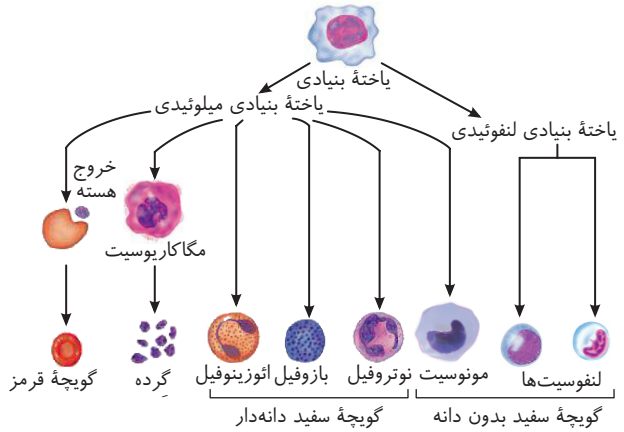
- هر اندام بدن حاوی چند نوع بافت مختلف می‌باشد که در هر بافت تعدادی یاختهٔ تمایز نیافته و تعدادی نیز یاختهٔ تمایز یافته وجود دارد.
- یاخته‌های بنیادی در **بافت‌های مختلف بدن** وجود دارند و می‌توانند با تمایز به **برخی بافت‌ها** تبدیل شوند.
- در مهندسی بافت این یاخته‌ها را از بدن خارج کرده ← در محیط کشت **تکثیر** می‌کنند ← به بافت‌های مشخصی متمایز می‌شوند.
- یاخته‌های بنیادی **بالغ کبدی** می‌توانند در خارج از بدن تکثیر شده و به **یاخته کبدی** یا **یاخته مجاری صفراوی** تمایز پیدا کنند.

انواع یاخته‌های بنیادی بالغ در مغز استخوان

- یاخته‌های بنیادی **لنفوئیدی** ← با تمایز به یاخته‌های **لنفوسیتی** خون تبدیل می‌شوند.

یاخته‌های بنیادی میلوئیدی

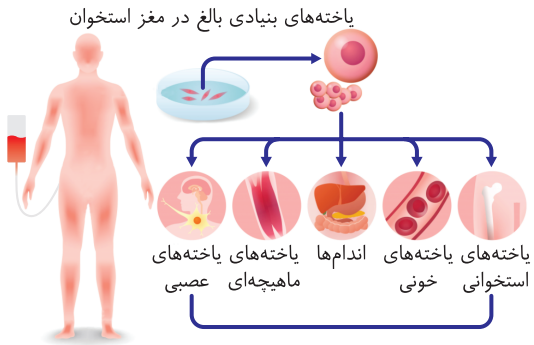
- برخی طی تمایز هستهٔ خود را از دست می‌دهند و به گویچهٔ قرمز بالغ تمایز می‌یابند.
- برخی به مگاکاریوسیت تبدیل شده و سپس قطعات سیتوپلاسمی به نام پلاکت یا گرده می‌سازند.



- سبب تولید یاخته‌های دفاعی مونوسیتی، بازوفیلی، نوتروفیلی و ائوزینوفیلی می‌شوند.

انواع دیگر از یاخته‌های بنیادی

- می‌توانند به رگ‌های خونی، ماهیچه اسکلتی، قلبی و ... تمایز یابند.



- در مهندسی بافت این یاخته‌های بنیادی را جدا کرده تا در آزمایشگاه با کشت آن‌ها و طی تکثیر و تمایز آن‌ها، انواع بافت‌ها و اندام‌ها ایجاد شوند.

تست ۹ **در زیست‌فناوری به روش مهندسی ..... برخلاف مهندسی ..... به‌طور معمول از ژن بیگانه تغییر یافته استفاده نمی‌شود.**

۱) بافت - پروتئین ۲) ژنتیک - بافت ۳) پروتئین - ژنتیک ۴) بافت - ژنتیک

پاسخ ۱ در مهندسی بافت باید یاختهٔ بنیادی مورد نیاز را بدون تغییر در محیط کشت قرار دهیم تا بافت مورد نظر را بسازد. در این روش برخلاف مهندسی پروتئین تغییری در ژن‌ها ایجاد نمی‌کنیم. *(در مهندسی ژنتیک و مهندسی بافت، ژن یا یاختهٔ خارج کرده را تغییر نمی‌دهیم چون هدف همانندسازی همان نوع اولیه می‌باشد.)*

تست ۱۰ **هر یاختهٔ بنیادی انسانی که در محیط کشت تکثیر شود، قطعاً .....**

۱) به یک جنین طبیعی تبدیل می‌شود. ۲) تعدادی یاختهٔ بنیادی در محیط ایجاد می‌کند.

۳) به یاخته‌ای از بافت جدا شده خودش تمایز می‌یابد. ۴) درون رحم یک مادر می‌تواند به هر یاختهٔ جنینی و خارج جنینی تبدیل شود.

پاسخ ۲ **نکتهٔ مهم:** همواره در اثر تکثیر یک یاختهٔ بنیادی، تعدادی یاختهٔ مشابه آن به صورت بنیادی ایجاد می‌شود تا در بدن نگه داشته شوند. این یاخته‌های بنیادی اگر از نوع جنینی باشند، قدرت تکثیر و تمایز برای تبدیل شدن به جنین و نوزاد کامل دارند ولی اگر از نوع بنیادی بالغ باشند، می‌توانند به یک یا چند نوع بافت یا یاخته تمایز یابند.

درسنامه

گفتار ۳ کاربردهای زیست‌فناوری

در این بخش می‌خواهیم بیاموزیم که روش‌های مختلف شاخهٔ علمی زیست‌فناوری که بررسی کردیم، چه بهره‌ای می‌تواند برای بهبود کیفیت **زندگی انسان** و **حفظ محیط‌زیست** داشته باشد. در ادامه به نقش و بررسی کاربردهای زیست‌فناوری در کشاورزی، پزشکی و دامپروری می‌پردازیم.

الف) کاربرد زیست‌فناوری در کشاورزی

تا قبل از استفاده و پیدایش **فناوری زیستی نوین**، تحول در **کشاورزی نوین** و عبور از مرحلهٔ سنتی با استفاده از کودها و سموم شیمیایی، کشت انواع مختلف محصول، استفاده از ماشین‌های مدرن کشاورزی و افزایش سطح زمین زیر کشت صورت گرفت. این عوامل توانست **افزایش چشمگیری** در محصولات کشاورزی مانند **گندم، ذرت و برنج** ایجاد کند. در کنار این ویژگی‌های مثبت، تعدادی ویژگی **منفی** و عواقب زیانباری مثل **آلودگی محیط‌زیست** در اثر کودها و سموم، دود حاصل از ماشین‌آلات کشاورزی متنوع، ایجاد شد. از طرفی **کاهش تنوع ژنی** در اثر رشد و کاشت محصولات محدودتر و پربارتر، وجود محدودیت در زمین‌های بارور، **تخریب جنگل‌ها و مراتع** برای زیر کشت درآوردن سطح بیشتری از زمین صورت می‌گرفت تا گیاهان غیرخودرو (*زراعی*) ایجاد شوند. در حال حاضر و با افزایش تعداد فراوان جانداران آفت و افزایش نیاز انسان‌ها به محصولات کشاورزی، نمی‌توان برای افزایش محصولات به هر روشی متوسل شد. از طرفی مقدار زمین کشاورزی و قابل کشت در محیط، مناسب با افزایش رشد جمعیت انسان‌ها **نمی‌باشد**. به همین دلیل محققین به فکر به کار بردن روش‌های **فناوری جدید زیستی** برای حل مشکلات کشاورزی افتادند.

بررسی مثال‌هایی از کاربردهای زیست‌فناوری نوین در کشاورزی:
- ۱) تولید گیاهان مقاوم به آفت‌ها
- ۲) اصلاح بذر گیاهان
- ۳) تولید گیاهان مقاوم به علف‌کش‌ها

نکته

امروزه برای ایجاد محصول بهتر، می‌توان ژن‌هایی از گیاهان **خودرو** را استخراج کرد و با فنون **مهندسی ژنتیک** ابتدا آن‌ها را همسانه‌سازی کرد و سپس به ژنوم گیاهان زراعی اضافه کرد (*زیست دهم*).

توجه: در تست‌ها خیلی دقت کنید که کشاورزی نوین را با زیست‌فناوری نوین در این قسمت و تست‌ها اشتباه نگیرید چون کشاورزی نوین با استفاده از ماشین‌آلات و کودها و قبل از زیست‌فناوری بوده است که فعالیت زیادی نیز دارد.

۱) تولید گیاهان مقاوم به آفت‌ها

● **استفاده از سم‌های ضد آفات گیاهی در کشاورزی نوین قبل از پیدایش فناوری زیستی نوین**

قبل از پیدایش محصولات حاصل از زیست‌فناوری نوین، برای از بین بردن جانداران مزاحم یا آفات گیاهی، از **سم‌پاشی** استفاده می‌کردند تا سم مورد نظر سبب از بین بردن آفت شود. این مسئله دو اشکال داشت، یکی اینکه این مواد **آلوده‌کننده محیط‌زیست** بودند و دیگری اینکه ممکن بود خود **گیاه نیز اگر به سم مورد نظر مقاوم نباشد، از بین برود**. مثلاً نوعی حشرهٔ کرمی‌شکل وجود دارد که به **درون** غوزه نارس پنبه نفوذ می‌کند و سبب آلودگی این گیاه می‌شود. تا چند سال قبل کشاورزان مجبور بودند برای از بین بردن این آفت‌های **درونی**، **سم‌پاشی‌های متعدد** انجام دهند چون همان‌طور که گفتیم این حشره به **درون غوزه** می‌رود و در معرض سطح گیاه قرار نمی‌گیرد تا بتوان به آسانی با یک‌بار سم‌پاشی از بین بروند. از طرفی در **انتخاب طبیعی** مشاهده کردید که جانداران به تدریج می‌توانند به مواد محیطی مقاوم شوند. پس احتمال ایجاد و تکثیر کرم‌های مقاوم پس از چند نسل وجود داشت و سبب بی‌اثر شدن سم‌ها نیز می‌شد.

گیاه آلوده — ورود آفت به درون غوزه — گیاه سالم

«آلوده شدن غوزه گیاه پنبه به آفت را نشان می‌دهد.»

● استفاده از فناوری زیستی نوین برای مقابله با آفات گیاهی

محققین شاخهٔ گیاهی علم زیست‌شناسی مشاهده کردند که **برخی از باکتری‌های خاکزی**، می‌توانند **پروتئین‌هایی** تولید کنند که برای **حشراتِ مضرِ** گیاهانِ زراعی، به عنوان یک ماده سمی به حساب آیند و می‌توانند سبب مرگ این حشرات مضر شوند. محققین با مطالعات خود در مورد این مواد پروتئینی به این نتیجه رسیدند که این باکتری‌های خاکزی، در مرحله‌ای از **رشد** خود **نوعی** پروتئین **سمی** می‌سازند که ابتدا درون یاخته باکتری به عنوان یک **پیش‌سم غیرفعال** تولید می‌شود و به باکتری آسیبی نمی‌رسانند. وقتی حشره آفت گیاهان، این باکتری‌ها و ماده پروتئینی را می‌خورد، این ماده تحت تأثیر **آنزیم‌های گوارشی** برون‌یاخته‌ای (*پروتئازها*) در لولهٔ گوارش حشره، **شکسته** شده و به مادهٔ **سمی فعال** برای این حشره درمی‌آید. این سم فعال شده سبب تخریب **یاخته‌های** لولهٔ گوارش شده و مرگ جانور می‌شود. به این ترتیب گیاهی که در مجاور این باکتری‌ها و حشرات قرار دارد، تحت اثر آفت یا همان حشرهٔ کرمی‌شکل (*لارو*) فوق قرار نمی‌گیرد.

محققین علم زیست‌فناوری به فکر تولید انبوه یا همسانه‌سازی ژن‌های سازنده پروتئین‌های آفت‌کش افتادند. آن‌ها با روش **مهندسی ژنتیک**، ابتدا ژن‌های مربوط به ساخت این پروتئین‌های سمی را **توسط آنزیم برش‌دهنده از ژنوم حلقوی باکتری جدا کردند** و به همان روش‌های گفته شده در مهندسی ژنتیک، آن‌ها را به کمک ناقل همسانه‌ساز (*ریک*) و آنزیم‌های میزبان، انبوه‌سازی کردند. سپس این ژن‌های مورد نظر که رمز ساخت پروتئین‌های آفت‌کش را داشتند به همراه دیسک یا ناقل همسانه‌ساز جدا کرده و وارد یاخته‌ها یا بذر گیاهان زراعی مورد نظر نمودند. پس از مدتی با **بیان این ژن‌ها** در **یاخته‌های گیاهی**، مقدار زیادی از این پیش‌سم‌های غیرفعال باکتریایی، توسط یاخته‌های گیاهی ایجاد شدند و سبب مقاوم شدن گیاهان به انواع مختلف آفت‌ها شدند.

نکات مهم در بررسی تست‌ها

۱) با استفاده از این روش تاکنون **چند نوع** گیاه مقاوم مثل **ذرت، پنبه و سویا** تولید کرده‌اند که از اثر آفت‌های گیاهی در امان هستند.

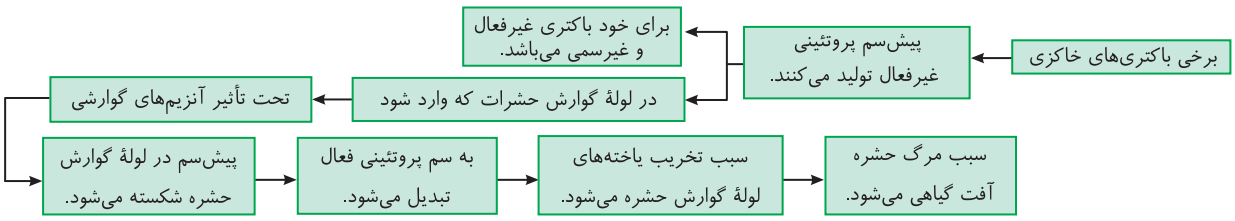
۲) تولید گیاهان مقاوم به آفت‌ها، سبب **کاهش** استفاده از **سم‌پاشی‌ها** به گیاهان می‌شود و از آلودگی محیط‌زیست و مقاوم شدن آفات به سم‌ها به طرز قابل توجهی می‌کاهد.

۳) بیان ژن تولید مادهٔ سمی ضد آفت، علاوه‌بر عوامل پروکاریوتی باکتری، درون یاختهٔ گیاه زراعی و توسط عوامل یوکاریوتی نیز صورت می‌گیرد.

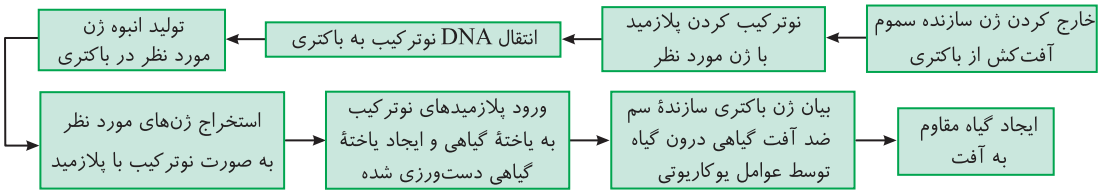
۴) امروزه با کمک فناوری زیستی، **پنبه‌های مقاومی** ایجاد کرده‌اند که این گیاهان با **تولید عوامل سمی** برای کرم‌ها، سبب از بین بردن اغلب این جانوران مزاحم شده تا آسیب‌رسانی به غوزهٔ نارس پنبه‌ها کاهش یابد و نیاز به سم‌پاشی این گیاهان را **تا حدود زیادی، کاهش** داده است. (*دقت کنید که نیاز به سم‌پاشی کاهش یافته است نه اینکه از بین رفته است!*) حشره کرم آفت این پنبه‌ها، با خوردن قسمت **بیرونی** این گیاهان از بین می‌روند و فرصت ورود به **درون غوزه** را از دست می‌دهند و باز هم تکرار می‌کنیم که این کار نیاز به سم‌پاشی را در مزارع **کاهش** داده است.

۵) در تست‌ها دقت کنید که این جانور کرمی‌شکل، کرم نیست بلکه نوعی حشره با تنفس نایدیسی لوله‌های مالپیگی و سایر نکات حشرات می‌باشد.

● خلاصه اثر باکتری‌های سم‌ساز خاکزی



● راه مهندسی ژنتیک در تولید گیاهان مقاوم به آفات



نکته

چون این سم با مهندسی ژنتیک تولید شده است (*نه مهندسی پروتئین*)، پس نوع محصولی که گیاه مقاوم می‌سازد با نوع محصولی که باکتری می‌سازد یکسان و مشابه است.

۲) اصلاح بذر گیاهان با فناوری زیستی

همان‌طور که به احتمال زیاد می‌دانید در کشاورزی، به هر قسمتی از گیاهان که می‌توانند به **تکثیر و تولیدمثل** گیاه منجر شوند و نسل دیگری از همان گیاه را بسازند، **بذر** می‌گویند.

محققین در زمینهٔ زیست‌فناوری توانسته‌اند با استفاده از روش‌های **مهندسی ژنتیک**، ژن‌های مفیدی را پس از انبوه‌سازی در بذر گیاهان قرار دهند و با تکثیر آن‌ها، **گیاهان تراژنی** شده با قدرت تولید محصولات مطلوب، گیاهان مقاوم به خشکی و شوری و گیاهانی با افزایش ارزش غذایی محصولات بسازند و یا حتی توانستند سبب تنظیم سرعت رسیدن میوه‌ها شوند.

نکته

در این مثال‌ها نیز ژن مناسب، مثلاً از یک گیاهی که به خشکی مقاوم است را جدا کرده و این ژن را بدون تغییر، ابتدا با دیسک نوترکیب کرده وارد باکتری می‌کنند، پس از همسانه‌سازی این ژن، آن‌ها را وارد بذر گیاهان می‌کنند. **این بذرها با تقسیم زیاد و تکثیر خود زمینه‌ساز گیاهی تراژن شده می‌شوند که در همهٔ یاخته‌های خود ژن مقاوم به خشکی را دارد.** در صورت بیان این ژن‌ها و ساخت پروتئین‌های خاص، ویژگی مورد نظر در گیاه تراژنی جدید ایجاد می‌شود. همهٔ یاخته‌های این گیاه حاوی ژن دست‌ورزی شده می‌باشد و به خشکی نیز مقاوم می‌شود.

نکته

گیاه تراژن، گیاهی است که در **همهٔ** یاخته‌های آن ژن نوترکیب یا جدید وجود داشته باشد ولی یاختهٔ دست‌ورزی شده یعنی فقط در آن یاختهٔ ژن نوترکیب وجود دارد.

تست ۱۱ **در حال حاضر برای تولید پنبه‌های مقاوم به حشرات آفت .....**

۱) پروتئین غیرسمی را به گیاه زراعی وارد می‌کنند.

۲) ابتدا ژن تولید پروتئین فعال سمی را در باکتری همسانه‌سازی می‌کنند.

۳) دنای ناقل نوترکیب را وارد برخی یاخته‌های گیاه زراعی می‌کنند.

۴) گیاهی تراژن با توانایی تولید سم غیرفعال ایجاد می‌کنند.

پاسخ ۳ دقت کنید که برای ایجاد نوعی پنبهٔ **زراعی** مقاوم به کرم آفت، در روش مهندسی ژنتیک، ابتدا ژن تولید پروتئین پیش‌سمی غیرفعال را در باکتری همسانه‌سازی کرده و سپس این ژن بیگانه را به صورت نوترکیب با ناقل ژنی به برخی از یاخته‌های گیاه فوق اضافه می‌کنیم. در این حالت یاخته‌های فوق **دچار دست‌ورزی ژنتیکی** می‌شوند تا با بیان این ژن، پروتئین مورد نظر ایجاد شود. توجه داشته باشید که واژهٔ جاندار تراژن وقتی اطلاق می‌شود که **همهٔ** یاخته‌های جاندار حاوی ژن جدید باشند که این عمل با تغییر در بذر گیاهان صورت می‌گیرد نه اینکه فقط چند یاختهٔ آن را دست‌ورزی کرده باشیم *(نادرستی گزینهٔ (۴) و درستی گزینهٔ (۳))*.

◄ در مورد نادرستی گزینه‌های (۱) و (۲) فقط کافی است دقت کنید که پروتئین فوق ابتدا به صورت **پیش‌سم غیرفعال** در باکتری و یا گیاه تغییر یافته ایجاد می‌شود و در بدن حشره به نوع فعال سمی تبدیل می‌شود. در این روش ژن تولید پروتئین مورد نظر را به گیاه اضافه می‌کنند نه اینکه محصول پروتئینی را جدا کنند.

تست ۱۲ **در تولید یک گیاه اصلاح شدهٔ ژنتیکی به کمک تزریق دیسک نوترکیب شده، کدام مرحله از مراحل مهندسی ژنتیک مشاهده نمی‌شود؟**

۱) برش DNA

۲) تولید DNA نوترکیب

۳) ورود DNA نوترکیب به گیاه

۴) جدا کردن ژن همسانه‌سازی شده از دیسک

پاسخ ۴ در مهندسی ژنتیک در تولید یک گیاه اصلاح شدهٔ ژنتیکی، به منظور افزایش ویژگی‌های مطلوب گیاهان، ژن انبوه‌سازی شده را به همراه ناقل ژنی به گیاه وارد می‌کنند. در این حالت برش دنا و ناقل ژنی و نوترکیب شدن آن‌ها وجود دارد ولی ژن را از دیسک جدا نمی‌کنند.

۳) تولید گیاهان مقاوم به علف‌کش‌ها

امروزه با روش فناوری زیستی، از گیاهان مقاوم به علف‌کش، **ژن ویژه مقاومت به این ماده را جدا کرده** و توسط **باکتری‌ها** در مهندسی ژنتیک این ژن را انبوه‌سازی می‌کنند و سپس این ژن‌ها را وارد سایر گیاهان کرده تا این یاخته‌های تغییریافته، با بیان ژن‌های جدید سبب مقاومت گیاه به علف‌کش شوند *(در این حالت با به کار بردن علف‌کش، دیگر فقط علف‌های هرز از بین می‌روند و خود گیاه اصلی آسیب نمی‌بیند)*.

توجه: در زیست‌فناوری نوین، گیاهان مقاوم به حشره (نه حشره‌کش) و گیاهان مقاوم به علف‌کش تولید می‌کنند.

ب) کاربرد زیست‌فناوری در پزشکی

۱) تولید دارو ← وسیله درمان با مهندسی ژنتیک

۲) تولید واکسن ← وسیلهٔ **پیشگیری** با مهندسی ژنتیک

۳) ژن‌درمانی با مهندسی ژنتیک

۴) تشخیص بیماری‌ها

۱) استفاده از زیست‌فناوری در تهیه داروها

تا چندی قبل از پیدایش روش‌های نوین فناوری زیستی، تهیه داروهای خاص مانند انسولین برای بیماران دیابتی نوع I و... به سختی صورت می‌گرفت و بسیار هزینه‌بر بود. این داروها را معمولاً از **منابع غیرانسانی** تهیه می‌کردند که اغلب **پاسخ‌های ایمنی** در فرد گیرنده ایجاد می‌کرد. مثلاً قبلاً انسولین را از **لوزالمعده جانورانی مثل گاو** استخراج می‌کردند و آن را جداسازی و خالص می‌کردند تا بیماران از آن استفاده کنند.

یادآوری انواع دیابت شیرین

- نوع I
  - بیماری **خودایمنی** است که سیستم ایمنی به یاخته‌های انسولین‌ساز جزایر لانگرهانس پانکراس حمله می‌کند.
  - از سنین پایین بروز می‌یابد (*معمولاً زیر ۴۰ سال*).
  - بیماران محتاج به تزریق انسولین برای کنترل قند خون خود هستند.
- نوع II
  - معمولاً در سنین بالای چهل سال رخ می‌دهد که در نتیجه **چاقی و عدم تحرک** ایجاد می‌شود.
  - بیماران اشکالی در تولید انسولین ندارند و نیازی نیز به تزریق آن ندارند.
  - انسولین به مقدار کافی در بدن بیماران وجود دارد ولی گیرنده‌های انسولین به آن پاسخ نمی‌دهند.
- یاخته‌های بدن افراد در هر دو نوع دیابت قادر به گرفتن گلوکز از خون نمی‌باشند و گلوکز خون بالا می‌رود.
- به ترتیب ذخایر گلیکوژن و چربی آن‌ها برای تولید انرژی تجزیه می‌شوند. تجزیهٔ چربی‌ها سبب می‌شود که pH خون بیماران اسیدی شود. در نهایت این افراد برای تهیهٔ انرژی مجبور به تجزیه پروتئین‌های خود می‌شوند که در پی آن مقاومت بدن آن‌ها در مقابل بیماری‌ها کم می‌شود.
- علائمی مانند پرادراری و پرنوشی (*نوشیدن زیاد آب*) دارند.

● بررسی ساختار انسولین انسانی

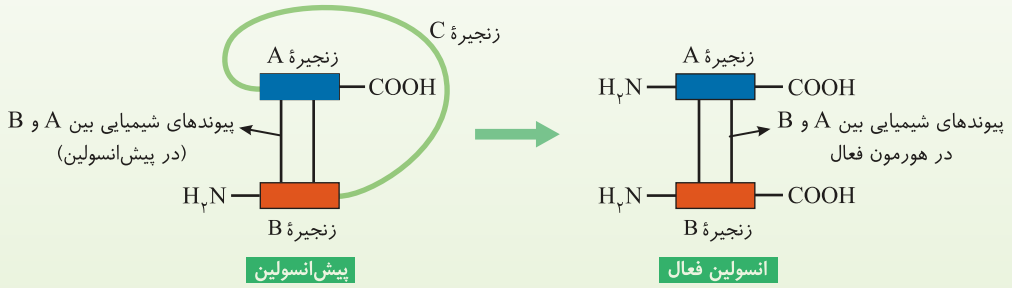
ژن مربوط به ساخت انسولین انسانی و سایر پستانداران، در هر یاخته هسته‌دار بدن آن‌ها وجود دارد ولی این ژن فقط در **نوع خاصی** از **یاخته‌های درون‌ریز جزایر لانگرهانس لوزالمعده** بیان می‌شود و به تولید هورمون انسولین می‌پردازد. انسولین ابتدا به صورت یک پیش‌هورمون غیرفعال در لوزالمعده تولید می‌شود که دارای **یک زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی** می‌باشد. این زنجیرهٔ پلی‌پپتیدی از دو قسمت زنجیرهٔ B و زنجیرهٔ A به همراه یک زنجیرهٔ C رابط بین A و B تشکیل شده است. همه این سه زنجیره از **روی یک ژن** و به دنبال هم از توالی آمینواسیدی ساخته می‌شوند که تولید آن‌ها به ترتیب از زنجیره‌های B، سپس C و در آخر A انجام می‌شود. پیش هورمون انسولین، در قسمت‌های A و B خود، در بخش‌هایی با هم پیوند شیمیایی برقرار می‌کنند. زنجیرهٔ C نیز رابط بین دو قسمت A و B می‌باشد. مولکول پیش‌انسولین که حاوی بخش C بوده، غیرفعال می‌باشد و برای فعال شدن باید زنجیرهٔ C آن جدا شود تا به هورمون فعال انسولین با دو قسمت زنجیرهٔ A و B تبدیل شود. با حذف زنجیره C و ایجاد انسولین فعال، دو زنجیرهٔ کوتاه پلی‌پپتیدی A و B به صورت جدا از هم می‌باشند که در قسمت‌هایی با پیوند شیمیایی به هم متصلند. این انسولین فعال (*فاقد زنجیرهٔ C*) وارد **خون** می‌شود تا نفوذپذیری غشای یاخته‌های بدن را به گلوکز زیاد کند و تنفس یاخته‌ای و تولید ATP به اندازهٔ کافی صورت بگیرد.

نکات مهم در بررسی تست‌ها

۱) انسولین فعال با اینکه دو رشتهٔ پلی‌پپتیدی A و B دارد ولی این دو رشته به همراه زنجیرهٔ C، همگی از **روی یک ژن** ساخته شده‌اند. دقت کنید که آمینواسیدهای دو زنجیره A و B با پیوند پپتیدی به یکدیگر متصل نمی‌باشند. بلکه بین آن‌ها در قسمت‌هایی پیوند شیمیایی وجود دارد.

۲) مهم‌ترین مرحله در ساخت انسولین، تبدیل انسولین غیرفعال به نوع فعال می‌باشد که این عمل در پروکاریوت‌ها صورت نمی‌گیرد.

۳) در پیش انسولین، زنجیرهٔ B دارای عامل آمینی آزاد ($-NH_2$) و زنجیرهٔ A دارای عامل کربوکسیل یا اسیدی ($-COOH$) آزاد می‌باشد. در حقیقت اولین متیونین ترجمه شده برای تولید این ماده، اولین آمینواسید زنجیرهٔ B با گروه آمین آزاد بوده است.



«جدا شدن زنجیره C و تبدیل پیش‌انسولین به انسولین»

۴) همان‌طور که در شکل مشاهده می‌کنید، در انسولین فعال، دو گروه آمینی آزاد زنجیره‌های A و B در یک سمت و دو گروه کربوکسیل آن‌ها نیز در سمت دیگر قرار دارند ولی پیش هورمون یک گروه آمین و یک گروه کربوکسیل دارد.

۵) برای تبدیل پیش‌انسولین به انسولین فعال، دو پیوند پپتیدی در دو سر رشتهٔ C باید هیدرولیز شود تا کل بخش C از رشته‌های A و B جدا شود.

● روش تولید داروها با مهندسی ژنتیک

در حال حاضر فناوری دنای نوترکیب به علت تولید داروهای مطمئن و مؤثر، جایگاه ویژه‌ای در صنعت داروسازی دارد. در این روش ژن داروی مورد نظر را از تعدادی یاخته‌های **فرد سالم** جدا می‌کنیم و آن‌ها را به کمک ناقل ژنی (*ریسک*) وارد باکتری کرده تا همسانه‌سازی کند. سپس این باکتری‌های تراژن را به کمک پادزیست‌ها (*آنتی‌بیوتیک‌ها*) جدا کرده و داروی مورد نظر که در اثر فرایند ترجمه در باکتری تولید شده است را از آن‌ها استخراج می‌کنیم تا برای درمان افراد بیمار استفاده می‌کنیم.

نکته

در تهیه دارو با مهندسی ژنتیک، تمام مراحل **همانندسازی، رونویسی و ترجمه** برای ساخت دارو در یاخته میزبان ساده‌ای مثل باکتری صورت می‌گیرد و داروی مورد نظر را به مصرف انسان می‌رسانیم (*یعنی ژن همانه‌سازی شده تولید دارو را وارد بدن انسان نمی‌کنیم و در انسان یاخته تراژن ایجاد نمی‌کنند بلکه از محصول ژن برای درمان استفاده می‌کنند*).

● روش تولید انسولین در مهندسی ژنتیک

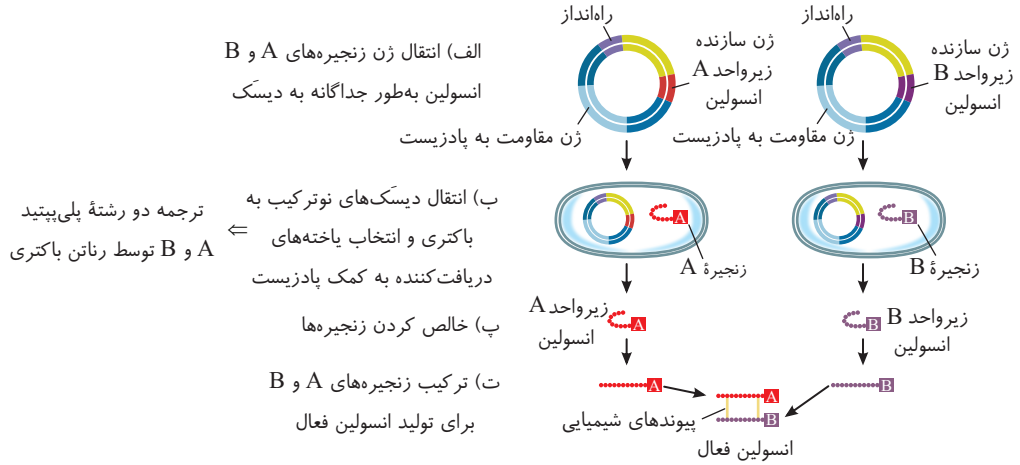
محققین در روش مهندسی ژنتیک و به کمک **باکتری‌ها**، موفق شدند که دو رشتهٔ پلی‌پپتیدی A و B موجود در **پیش هورمون غیرفعال انسولین** را توسط رناتن **باکتری‌ها** تولید کنند ولی **مهم‌ترین** مرحله در ساخت انسولین که **تبدیل انسولین غیرفعال به نوع فعال** می‌باشد، در باکتری‌ها انجام نمی‌شود به همین دلیل محققین شاخهٔ **مهندسی ژنتیک** در سال ۱۹۸۳ طرحی جدید ایجاد کردند. آن‌ها **دو توالی DNA** مربوط به ژن انسولین‌ساز که فقط مسئول ساخت زنجیره‌های A و B انسولین بودند را تولید کردند و هر کدام را توسط **دیسک نوترکیب کردند و به صورت جداگانه** وارد **باکتری** خاصی کردند. در هر نوع باکتری، یکی از زنجیره‌های پلی‌پپتیدی A یا B ساخته شد. محققین، این دو رشتهٔ پلی‌پپتیدی A و B را به‌طور خالص از باکتری‌ها استخراج کردند و **در آزمایشگاه** به وسیله پیوندهایی شیمیایی به هم متصل کردند تا انسولین فعال بسازند.

نکته

در روش ساخت انسولین با مهندسی ژنتیک، توالی DNA مربوط به ساخت زنجیره C، استفاده نمی‌شود و اصلاً زنجیره C و پیش‌هورمون تولید نمی‌شود.

نکته

دقت کنید که در روش تولید انسولین در باکتری، فقط دو رشتهٔ پلی‌پپتیدی کوتاه A و B در باکتری‌های جداگانه‌ای ایجاد می‌شود. یعنی خود **انسولین فعال نیز به‌طور کامل در باکتری تولید نمی‌شود**. بلکه اتصال این دو زنجیرهٔ A و B با پیوندهای شیمیایی غیرپپتیدی در خارج باکتری و در **محیط آزمایشگاه** صورت گرفت.



«مراحل ساخت انسولین در مهندسی ژنتیک»

تست ۱۳ پیش‌هورمون انسولین ..... هورمون فعال آن .....

۱) برخلاف - دارای سه رشتهٔ پلی‌پپتیدی A ، B و C می‌باشد.
۲) همانند - می‌تواند دارای ساختار نهایی چهارم پروتئینی باشد.
۳) برخلاف - دارای ساختار نهایی سوم پروتئینی می‌باشد.
۴) به تعداد - آمینواسید دارد.

پاسخ ۳ مولکول انسولین به صورت پیش‌هورمون ابتدا فقط یک رشتهٔ پلی‌پپتید متشکل از سه بخش متوالی $\left[\begin{matrix} A \\ / \\ COOH \end{matrix} \leftarrow C \leftarrow \begin{matrix} B \\ \backslash \\ H_2N \end{matrix}\right]$ دارد که نهایتاً به دلیل تک‌رشته‌ای بودن می‌تواند در ساختار سوم سه‌بعدی پروتئین قرار گیرد ولی انسولین فعال با حذف قسمت C صورت می‌گیرد که شامل دو زنجیرهٔ پلی‌پپتید کوتاه جدا از هم بوده که با پیوندهای شیمیایی به هم متصلند و ساختاری مانند ساختار چهارم پروتئین‌ها را به خود می‌گیرد.

تست ۱۴ در روش تولید انسولین با مهندسی ژنتیک، امکان ندارد که .....

۱) mRNA رمزکنندهٔ رشتهٔ C نیاز باشد.

۲) نیازی به آنتی‌بیوتیک برای انتخاب یاخته‌های تراژن داشته باشیم.

۳) همانند مهندسی پروتئین، قسمتی از یک توالی ژن مورد استفاده قرار نگیرد.

۴) در محل تولید ATP باکتریایی، رشته‌های A و B انسولینی ساخته شوند.

پاسخ ۱ برای تولید انسولین با مهندسی ژنتیک، توالی‌های دنای A و B هرکدام در باکتری جداگانه‌ای و توسط رنابسپاراز مجزایی رونویسی می‌شوند ولی این دو آنزیم هر دو یک نوع پروکاریوتی می‌باشند. دقت کنید که در این روش، اصلاً توالی مربوط به زنجیرهٔ C در واکنش شرکت نمی‌کند.

تله‌های تستی گزینهٔ (۲): در روش مهندسی ژنتیک باید پس از ورود ناقل ژنی نوترکیب شده به میزبان، برای جداسازی یاخته‌های تراژن، از پادزیست استفاده کنیم. / گزینهٔ (۳): برای تولید انسولین فعال در باکتری، اصلاً از توالی مربوط به زنجیرهٔ C استفاده نمی‌شود که همانند مهندسی پروتئین سبب تولید پروتئینی کوتاه‌تر از نوع اولیه می‌شوند ولی به این دلیل به آن مهندسی پروتئین نمی‌گویند که محصول ایجاد شده با محصول نهایی تولید شونده در جاندار فرقی نمی‌کند (*در مهندسی پروتئین قطعاً تغییری در ساختار پروتئین ایجاد می‌کنند*). / گزینهٔ (۴): در باکتری‌ها محل فعالیت رناتن همانند محل عمل واکنش‌های قندکافت در مادهٔ زمینه‌ای سیتوپلاسم می‌باشد که هم‌زمان با ترجمه، تولید ATP نیز در یاخته انجام می‌شود.

۲) استفاده از زیست‌فناوری در تهیه واکسن‌ها

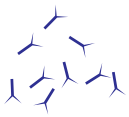
ابتدا دقت کنید که واکسن وسیله‌ای برای **پیشگیری** از بیماری‌ها می‌باشد (*نه درمان!*). واکسن‌ها محلولی حاوی یک یا چند نوع سم یا آنتی‌ژن (*پادگن*) آسیب‌رسان ضعیف شده یا میکروب‌های ضعیف یا کشته شده **خالص** می‌باشند. واکسن پس از تزریق در بدن به کمک پادتن‌ها و یاخته‌های خاطره سبب ایجاد **ایمنی اختصاصی فعال شده** که به صورت **اکتسابی** وارد بدن شده است.

● طریقه تولید واکسن قبل از پیدایش روش‌های فناوری زیستی

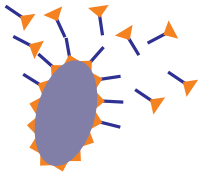
قبل از کشف مهندسی ژنتیک، برای تولید واکسن، مقداری از آنتی‌ژن‌ها یا سموم میکروب یا مقداری از میکروب‌های کشته یا غیرفعال شده را جدا می‌کردند و در محلولی قرار می‌دادند. با وارد کردن این محلول به بدن، این آنتی‌ژن‌ها یا میکروب‌های غیرفعال شده، سبب مقدار کمی تحریک در یاخته‌های دفاع اختصاصی بدن می‌شدند. با تولید پادتن‌های خاص، آنتی‌ژن یا میکروب وارد شده از بین می‌رود ولی **یاخته خاطره** آن‌ها در بدن باقی می‌ماند و **ایمنی فعالی** به صورت آماده‌باش در بدن حفظ می‌شود تا با ورود ثانویه میکروب اصلی، بدن قدرت دفاع بیشتر در برابر خود داشته باشد.

۱- هر میکروبی آنتی‌ژن‌های سطحی مخصوص به خود را دارد.

۲- از میکروب کشته شده، غیرفعال شده یا آنتی‌ژن‌های آن به عنوان واکسن استفاده می‌شود.



۳- با تزریق واکسن، مقداری پادتن و لنفوسیت خاطره تولید می‌شود.



۴- وقتی میکروب واقعی به بدن وارد شود، یاختهٔ خاطره و پادتن‌های باقی‌مانده آمادگی مقابله با آن را دارند.

«نحوهٔ عملکرد واکسن»

● مضرات راه قدیمی تولید واکسن

در تهیه واکسن به روش قدیمی، باید در نظر داشت که اگر **خطای انسانی** در غیرفعال کردن یا کشتن میکروب‌ها یا سموم آن‌ها اتفاق بیفتد، همان واکسن می‌تواند سبب ایجاد بیماری در افراد شود. به همین دلیل محققین به فکر تولید واکسن از راهی بی‌خطر افتادند.

● طرز تهیه واکسن به روش مهندسی ژنتیک

در این روش که دیگر **خطرهای اشتباهات انسانی مدل قبلی در آن وجود ندارد**، ابتدا ژن مربوط به پادگن (*آنتی‌ژن*) **سطحی** خاصی را از **عامل بیماری‌زا** جدا می‌کنند، سپس این ژن را به **باکتری یا ویروس غیربیماری‌زای** دیگری به عنوان میزبان انتقال می‌دهند. پس از بیان ژن بیگانه در میزبان جدید، **مقدار کمی آنتی‌ژن‌های سطحی** که مربوط به عامل بیماری‌زای اولیه می‌باشد، در سطح میزبان ایجاد می‌شود. با استخراج این میزبان‌ها و ترکیب آن‌ها با محلول ویژه‌ای، واکسن مورد نظر تولید می‌شود. با ورود این واکسن به بدن انسان و تحریک لنفوسیت‌های B، همانند قبل مکانیسم ایجاد یاخته‌های خاطره و پادتن برای مبارزه با عامل بیماری‌زای اصلی در بدن به راه می‌افتد.

نکته

دقت کنید که ویروس‌ها، جزء موجودات زنده نمی‌باشند و به تنهایی قدرت تکثیر ندارند، پس اگر میزبان یا گیرندهٔ ژن را ویروس انتخاب کنیم، ابتدا باید ویروس پذیرنده ژن عامل بیماری‌زا را **وارد یک یاخته زنده** کنیم تا با استفاده از آنزیم‌های میزبان و با تکثیر ویروس، آنتی‌ژن‌های سطحی نیز ساخته شوند.

نکته

واکسن ضد ویروس هپاتیت B را با روش مهندسی ژنتیک تولید کرده‌اند.

تست ۱۵ در روشی از مهندسی ژنتیک که برای پیشگیری از بیماری‌ها کاربرد دارد، مادهٔ تولید شده سبب کدام‌یک از موارد زیر می‌شود؟

۱) تحریک تولید پادتن و یاخته خاطره توسط میکروب غیر بیماری‌زا
۲) درمان برخی بیماری‌ها مثل هپاتیت نوع B
۳) تحریک یاختهٔ پادتن‌ساز و تولید پادتن توسط میکروب بیماری‌زا
۴) انتقال ژن به فرد گیرنده واکسن

پاسخ ۱ واکسن تولید شده با مهندسی ژنتیک می‌تواند سبب **پیشگیری** از عوامل بیماری‌زا شود. در این عمل، میکروب غیربیماری‌زایی که حاوی پادگن‌های سطحی میکروب مورد نظر می‌باشد، سبب تحریک ایمنی بدن و تولید پادتن و مقداری یاختهٔ خاطره می‌شود. این عوامل میکروبی سبب تحریک لنفوسیت B می‌شوند ولی یاختهٔ پادتن‌ساز یا پلاسموسیت فاقد گیرندهٔ آنتی‌ژنی بوده و پادگن مستقیماً سبب تحریک آن نمی‌شود. *(واکسن وسیلهٔ پیشگیری است نه درمان! (نادرستی گزینهٔ ۲))*.

۳) ژن‌درمانی به کمک فناوری زیستی

با پیشرفت فناوری‌های زیستی نوین، محققین به این فکر افتادند که می‌توانند با این روش، افرادی که با بیماری **ارثی** متولد می‌شوند را درمان کنند.
قبلاً برای درمان افرادی که مثلاً **نقص ارثی** در تولید **یک آنزیم خاص** در بدن داشتند، جدا کردن آنزیم‌ها از فرد سالم و تزریق به بیماران تنها راه ممکن بود که بسیار پرهزینه بود و یا با پیوند مغز استخوان سعی در برطرف کردن بیماری می‌کردند که البته هنوز نیز انجام می‌شود.
در حال حاضر یکی از روش‌های جدید درمان بیماری‌های ژنتیکی، روش **ژن‌درمانی** می‌باشد که **خود شامل مجموعه‌ای از روش‌ها می‌باشد.**

● تعریف ژن‌درمانی

به‌طور کلی، **ژن‌درمانی یعنی قرار دادن نسخهٔ سالم یک ژن در یاخته‌های فردی که دارای نسخه‌ای ناقص از آن ژن می‌باشد.** دقت کنید که در روش ژن‌درمانی، نسخه ناقص ژن را از فرد بیمار **جدا نمی‌کنند**، بلکه این فرد در حالی که در برخی یاخته‌های خود نسخه ناقص غیرفعال را دارد، دارای نسخه ژنی سالم نیز می‌شود. در حقیقت این فرد در برخی یاخته‌های خود، دو نوع دستورالعمل برای این ژن خاص دارد.

● روش کلی ژن‌درمانی با مهندسی ژنتیک

به‌طور کلی در این روش ابتدا **نسخهٔ سالم ژن** را از تعدادی یاخته **افراد سالم** جدا می‌کنیم و به کمک ناقل ژنی، آن‌ها را در **باکتری**، همسانه‌سازی می‌کنیم. سپس ناقل حاوی ژن‌های مورد نظر را به‌طور خالص جدا کرده و وارد یاخته دارای ژن ناقص در فرد بیمار می‌کنیم. در این روش، ژن سالم وارد شده، **در بدن فرد بیمار شروع به بیان شدن می‌کند** و محصولی را که قبلاً در فرد وجود نداشت، **به تدریج** تولید می‌کند. البته با تقسیم یاخته گیرنده ژن سالم، این ژن‌های سالم به یاخته‌های دیگر نیز منتقل می‌شوند.

نکاتی مهم در ارتباط با ژن‌درمانی

۱) ژن‌درمانی زمانی مفید واقع می‌شود که یاخته ژن‌درمانی شده **قدرت تکثیر** داشته باشد تا تعداد یاخته‌های دارای ژن سالم در بدن افزایش یابند و از طرفی باید ژن وارد شده به یاخته، قدرت بیان شدن داشته باشد تا آنزیم یا محصولی که کمبود یا فقدان آن سبب بیماری شده است به تدریج در فرد بیمار تولید شود.

۲) ژن‌درمانی کردن برای بیماری‌های **ارثی** که در یاخته‌های **عصبی** یا ماهیچه‌ای اسکلتی رخ می‌دهد زیاد تأثیری ندارد چون این یاخته‌ها قدرت تکثیر ندارند یا بسیار کند تقسیم می‌شوند. در نتیجه تعداد زیادی یاخته دارای ژن سالم و محصول آن در بدن ایجاد نمی‌شود.

۳) فردی که می‌خواهیم ژن‌درمانی شود، باید به‌طور مکرر و متناوب، چند بار ژن‌درمانی شود تا به تدریج مقدار ژن و محصول در بدن وی به حد طبیعی برسد. در نظر داشته باشید که طول عمر یاختهٔ ژن‌درمانی شده در آزمایشگاه زیاد نمی‌باشد و به همین دلیل فرصت کافی برای ساخت مقدار کافی از مادهٔ مورد نظر ندارد.

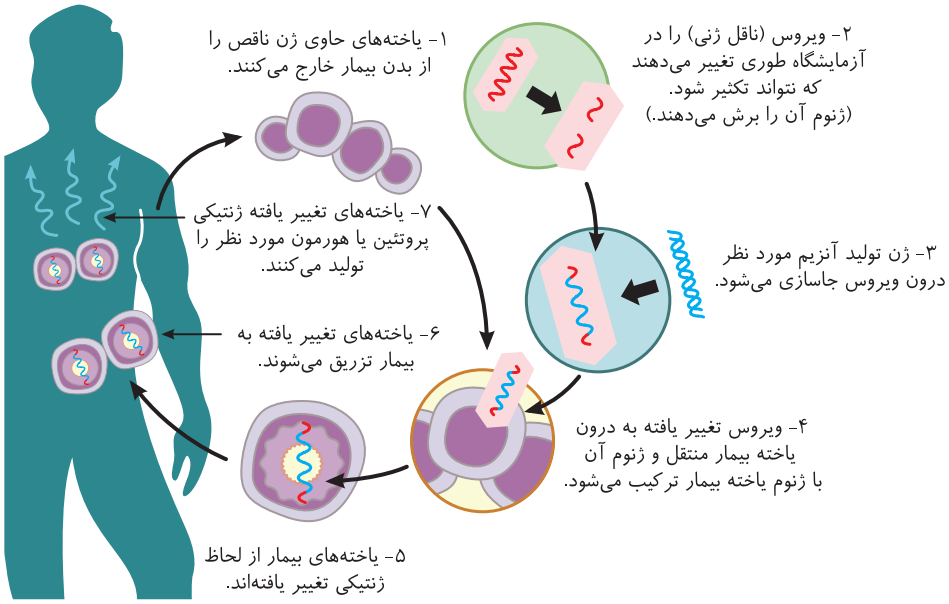
۴) در روش ژن‌درمانی، یاخته‌ای که ژن سالم را دریافت کرده است را یک یاختهٔ دست‌ورزی شده می‌نامیم.

۵) ژن‌درمانی کردن در مورد بیماری‌هایی معنی پیدا می‌کند که **نقص در ژنوم آن گونه** باشد. مثلاً اگر فرد دچار **مالاریا** شده است را نمی‌توانیم ژن‌درمانی کنیم چون این فرد به عامل بیماری‌زای گونهٔ دیگری آلوده شده است و ژن بیگانه سبب بیماری شده است نه اینکه نقص ژنی یا ارثی در فرد وجود داشته باشد.

● تاریخچه اولین ژن‌درمانی موفقیت‌آمیز روی انسان‌ها

اولین‌بار در سال ۱۹۹۰، دختربچه‌ای که دارای **نوعی نقص ژنی** در تولید **یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی** بود، مورد ژن‌درمانی قرار گرفت که نتیجه موفقیت‌آمیزی داشت. برای ژن‌درمانی این دختربچه، ابتدا مقداری از **لنفوسیت‌های خون** او را جدا کردند و آن‌ها را در محیطی در خارج بدن کشت دادند تا مقداری از آن‌ها را به صورت ذخیره داشته باشند. سپس از افراد سالم، ژن سالم ساخت این آنزیم سیستم ایمنی را جدا کردند و وارد بخش میانی ژنوم **یک ویروس** کردند. *(ویروس به‌عنوان ناقل ژنی بود)*، در ادامه ویروس مورد نظر که حاوی ژن سالم بود را وارد یاخته‌های لنفوسیتی کردند تا **ژنوم آن با ژنوم لنفوسیت ادغام شود.**
در انتها این لنفوسیت‌های تغییر یافته ژنتیکی را وارد بدن دختربچه بیمار کردند. پس از مدتی با آزمایش‌های مختلف مشاهده کردند **مقداری از آنزیم مورد نظر** برای اولین‌بار در بدن این دختربچه ایجاد شده است ولی هم مقدار این آنزیم‌ها برای زندگی طبیعی وی کم بود و هم طول عمر این لنفوسیت‌های تغییر یافته کوتاه بود، به همین دلیل لازم بود که این بیمار **به‌طور متناوب** لنفوسیت‌های مهندسی شده و تغییر یافته را دریافت کند *(به یاد دارید که مقداری لنفوسیت از این بیمار را به‌طور ذخیره نگه داشته بودند)*. بالاخره پزشکان با آزمایش‌های متعدد در این فرد، مشاهده کردند که سطح آنزیم مورد نظر و واکنش سیستم ایمنی که قبلاً در این دختربچه اصلاً تولید نمی‌شد، کم‌کم به حد طبیعی می‌رسد و تولید آن ادامه می‌یابد.

باز هم تکرار می‌کنیم که برای درمان این افراد می‌توان از روش‌های **تزریق آنزیم مورد نظر** یا **پیوند مغز استخوان** نیز استفاده کرد.



«مراحل ژن‌درمانی»

نکته

با روش ژن‌درمانی می‌توان تولید پروتئین یا هورمون خاصی را در بدن فرد بیمار القا کرد تا بیماری ژنتیکی او درمان شود.

تست ۱۶ **در یاخته‌ای که در اولین ژن‌درمانی تغییر ژنتیکی یافت، کدام‌یک از عوامل زیر وجود نداشت؟**

۱) ژن مقاوم به پادزیست
۲) قسمتی از ژنوم ویروسی
۳) ژن تولید اریتروپویتین
۴) دو نسخهٔ با فعالیت متفاوت از یک پروتئین ایمنی انسانی

پاسخ ۱ اولین ژن‌درمانی انسانی روی **لنفوسیت‌های** یک دختربچه انجام شد. این عمل با انتقال ژن سالم به همراه ناقل ژنی ویروسی صورت گرفت. همان‌طور که می‌دانید در بین ناقلین ژنی، ویروس‌ها برخلاف دیسک‌ها، ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک ندارند ولی این لنفوسیت دارای ژن تولید هر ماده عادی بدن از جمله اریتروپویتین می‌باشد و در ژن مورد ژن‌درمانی قرار گرفته، هر دو نوع ژن سالم و بیمار را حمل می‌کند.

تست ۱۷ **به چه دلیل در انسانی که اولین‌بار ژن‌درمانی شد، باید عمل ژن‌درمانی را چند بار متناوباً انجام می‌دادند؟**

۱) چون هنوز فرد گیرنده قدرت تولید آنزیم مورد نظر را نداشت.
۲) چون یاخته خونی تغییر یافته قدرت تکثیر نداشت.
۳) چون یاخته دفاعی تغییر یافته بقای زیادی نداشت.
۴) چون مقدار آنزیم در این فرد تراژنی کم بود.

پاسخ ۳ به دلیل عدم عمر طولانی لنفوسیت‌های تغییر یافته ژنتیکی، این یاخته‌ها در بدن زیاد تکثیر نمی‌یافتند و مقدار آنزیم مورد نیاز بدن را به حد نرمال نمی‌رساندند. به همین دلیل نیاز به چند مرحله ژن‌درمانی بود تا نقص برطرف شود.

۴) تشخیص بیماری‌ها به کمک فناوری زیستی

همان‌طور که می‌دانید **درمان مناسب** در بسیاری از بیماری‌ها وقتی جوابگو می‌باشد که **تشخیص اولیه بیماری** و **شناخت دقیق** آن در زمان مناسبی صورت گرفته باشد. چه بسیار افرادی که فقط به دلیل تشخیص دیرهنگام بیماری خود، از بین رفته‌اند یا سبب انتقال بیماری به افراد دیگر شده‌اند. قطعاً تشخیص بیماری زمانی که علائم آن ظاهر شده است، کار آسانی است ولی در اغلب موارد در این موقع بیماری به حد بالایی از آسیب‌رسانی خود رسیده است. مثلاً فهمیدن اینکه فردی ایدز دارد در هنگامی که علائم ایدز در آن پدیدار شده است تقریباً به این معنی است که دیگر نمی‌توان درمان و کار مناسبی برای بهبود وی انجام دهیم. در حال حاضر علاوه بر اینکه با آزمایشات دوره‌ای (چکاپ) افراد، مثل آزمایش **خون یا ادرار** و **مدفوع** می‌توانیم بسیاری از بیماری‌های نهفته فرد را پیدا کنیم، با پیدایش **فناوری‌های زیستی** و **تحقیق روی DNA** و **توالی آن‌ها**، می‌توانیم از وجود **انواع DNA بیگانه** یا نقص ژنی فرد نیز مطلع بشویم. این عمل سبب می‌شود که وقتی هنوز علائم بیماری در فرد ظاهر نشده است و میزان عامل بیماری‌زا در بدن وی پایین است، نیز به تشخیص بیماری زمینه‌ای یا نهفته او برسیم. امروزه با کمک روش‌های زیست‌فناوری می‌توانند از وجود **نوکلئیک‌اسیدهایی** بیگانه مربوط به **عامل‌های بیماری‌زا** در بدن افراد مطلع شوند.

نکته

با روش زیست‌فناوری و ردیابی ژنوم افراد می‌توانیم به **تشخیص ژن‌های جهش یافته** در بیماران **مستعد به سرطان** یا در مسائل **پزشکی قانونی** و تحقیقاتی در مورد **مادهٔ ژنتیکی فسیل‌ها** بپردازیم.

● ایدز و تشخیص زودهنگام آن

همان‌طور که در زیست یازدهم یاد گرفتید، ایدز یا بیماری **نقص ایمنی اکتسابی**، نوعی بیماری **ویروسی** است که عامل آن **ویروس رنادار HIV** می‌باشد. این ویروس سبب نقص در عملکرد سیستم ایمنی بدن می‌شود و سبب می‌شود فرد توانایی دفاع در مقابل عوامل بیماری‌زا را از دست بدهد.

این ویروس پس از ورود به بدن ممکن است بین **۶ ماه تا ۱۵** سال نهفته باقی بماند و بیماری ایجاد نکند. این فرد در این دوره آلوده به HIV می‌باشد **ولی بیمار نیست** و علائمی از بیماری ایدز ندارد. بسیار مهم است که فرد در این دوره از وجود ویروس HIV در بدن خود مطلع شود. امروزه برای تشخیص ایدز در مراحل اولیه، **DNAهای موجود در خون فرد مشکوک را استخراج می‌کنند**. این DNAها اگر فقط مربوط به یاخته‌های خونی وی باشند، که مشکلی ندارد. در این صورت فرد سالم بوده و فاقد ویروس HIV می‌باشد. ولی اگر علاوه بر DNA یاخته‌های گویچه‌های سفید و ژنوم دیگر حلقوی راکیزه‌های انسان، ژنوم دیگری نیز وجود داشته باشد، محققین زیست‌فناوری مادهٔ ژنتیکی بیگانه را استخراج کرده و تشخیص می‌دهند که مربوط به چه عاملی می‌باشد. **اگر این مادهٔ ژنتیکی مربوط به ویروس ایدز باشد**، تشخیص **زودرس** آن اهمیت زیادی دارد چون سبب اقدامات **درمانی** برای آن فرد در زمان مناسب می‌شود و با **پیشگیری‌های** لازم از انتقال این ویروس به سایر افراد جلوگیری می‌شود.

نکات مهم در بررسی تست‌ها

۱) ویروس عامل ایدز یا همان HIV، دارای رنا می‌باشد ولی برخلاف مطالبی که تا حالا خوانده‌اید، این ویروس می‌تواند، پس از ورود به یاختهٔ زندهٔ لنفوسیت T کمک‌کننده، از روی رنای خود، دنا بسازد و این دنا سبب اختلال در یاختهٔ آلوده شود (*البته این یاخته نیز به تولید اینترفرون نوع ۱ می‌پردازد*).

۲) HIV از طریق رابطهٔ جنسی، خون و فرآورده‌های خونی آلوده و هر شیء تیز و برنده آلوده به خون ویروس‌دار می‌تواند منتقل شود و وارد مایعات بدن شود. این ویروس در دوران بارداری یا زایمان و یا از راه شیر دادن می‌تواند از مادر آلوده به جنین یا نوزاد آن منتقل شود.

۳) ترشحات عرق، اشک، بینی، خلط، بزاق، ادرار و مدفوع از مواردی نیستند که انتقال ویروس ایدز توسط آن‌ها اثبات شده باشد.

۴) ایدز تاکنون درمان قطعی ندارد و بهترین راه برای مقابله با آن، پیشگیری و افزایش آگاهی عمومی است.

۵) ویروس HIV ابتدا به نوع خاصی از لنفوسیت‌های T به نام **T کمک‌کننده** حمله می‌کند ولی متأسفانه فعالیت **هر نوع لنفوسیت B و T** به کمک **لنفوسیت T کمک‌کننده** صورت می‌گیرد. پس آلودگی به HIV باعث نقص در **کل ایمنی اختصاصی** به کمک لنفوسیت‌های B و T می‌شود.

ج) کاربرد زیست‌فناوری در تولید دام‌های تراژنی و محصولات دامپروری

نکته

در ابتدا دقت کنید که فرق یاختهٔ دست‌ورزی شده با جاندار شبیه‌سازی شده تراژنی چیست؟ جانداری را شبیه‌سازی با تراژن کردن می‌گوییم که در همهٔ یاخته‌های بدن او، ژن بیگانه از گونهٔ دیگر وجود داشته باشد. (*مانند گیاه زراعی تراژنی ایجاد شده با دستکاری در بذر گیاه*!) ولی یاختهٔ دست‌ورزی شده به این معنی است که ژن بیگانه وارد سیستم ژنی آن شده است.

توجه: زیست‌فناوری می‌تواند با تولید جانوران تراژنی به حل خیلی از مشکلات و ابهامات بشری بپردازد که در ادامه به بررسی این واکنش‌ها می‌پردازیم.

نکته

در ایجاد جانوران تراژنی، با وارد کردن ژنی خاص به تخم یا تخمک لقاح یافته یک جانور، سبب ایجاد یک جانور بالغ می‌شوند که در همهٔ یاخته‌های خود ژن مورد نظر محقق را دارد و با بیان آن ژن به مطالعاتی مانند موارد ذکر شده، می‌پردازند.

۱) بررسی رشد دام‌ها

با استفاده از مهندسی ژنتیک می‌توانند هورمون رشد دامی را **توسط باکتری‌ها** تولید کنند و با اضافه کردن آن هورمون به دام‌های دیگر، سبب رشد بیشتر دام‌های دیگر شود. محققین شاخهٔ زیست‌فناوری با مطالعه عملکرد ژن‌های خاص در بدن مثل ژن‌های عوامل رشد می‌توانند به بررسی نقش آن‌ها در رشد دام بپردازند.

۲) مطالعه روی دام‌ها برای بررسی بیماری‌های انسانی

دانشمندان زیست‌فناوری با آزمایش کردن **ژن‌های انسانی** بیماری‌زا **روی دام‌ها** و بررسی اثرات آن‌ها در این جانوران می‌توانند به مطالعه بیماری‌های انسانی مثل انواع سرطان‌ها، آلزایمر و بیماری‌هایی خودایمنی مانند MS (ام.اس) بپردازند.

۳) تولید پروتئین‌های مفید انسانی و داروهای خاص توسط دام‌های تراژنی شده

همان‌طور که بارها گفته شد به جانداری که ژن بیگانه از گونهٔ دیگری را پذیرفته است، جاندار تراژنی می‌گویند و از طرفی می‌دانید که همهٔ یاخته‌های بدن یک جاندار پریاخته‌ای از میتوز یاخته تخم ایجاد می‌شود. **پس هر دست‌ورزی ژنتیکی در یاختهٔ تخم می‌تواند در صورت از بین نرفتن آن به تولید جانداری تراژن بیانجامد که همهٔ یاخته‌های بدنش حاوی ژن یا ژن‌های مورد نظر ما باشد.** با این روش که در ادامه به توضیح کامل آن می‌پردازیم توانستند، گاوها یا گوسفندهای تراژنی ایجاد کنند که شیر آن‌ها غنی از پروتئین خاص انسانی باشد و سپس با استخراج آن پروتئین‌ها، از آن‌ها به عنوان دارو استفاده کنند.

نکته

مصرف شیر غنی از پروتئین‌های انسانی که توسط **گاوهای تراژنی شده** تولید می‌شود، نسبت به شیر طبیعی گاو، برای انسان **مناسب‌تر** و **مفیدتر** می‌باشد.

● طرز تهیه پروتئین انسانی با استفاده از دام‌های تراژنی شده

در این روش ابتدا ژنی که یک پروتئین مهم انسانی را رمزگردانی می‌کند جدا کرده و با ناقل ژنی نوترکیب می‌کنند، سپس **یاخته تخم لقاح یافته** دامی را از بدن والـد مـاده جـدا می‌کنند و **ناقل ژنی نوترکیب که حاوی ژن مورد نظر ما می‌باشـد را وارد تخم می‌کنند**. به این تخم تراژنی شـده در آزمایشـگاه اجازه تکثیر و طی کردن مراحل اولیه رویانی (جنینی) می‌دهند. در نهایت آن‌ها را وارد رحم یک دام ماده از آن گونه می‌کنند تا با تکثیر بیشتر، **دامی تراژن به دنیا بیاید که همهٔ یاخته‌های هسته‌دار بدنش دارای ژن تولید پروتئین انسانی می‌باشد.** بدیهی است که با بیان یا روشن شدن این ژن در یاخته‌های پستان دام، پروتئین انسانی نیز وارد شیر دام می‌شود. سپس پروتئین‌های انسانی را از شیر دام استخراج کرده و به **مصارف دارویی** می‌رسانند.

● روش تولید جانوری تراژنی شده با ژن انسانی

«تولید پروتئین‌های انسانی با استفاده از دام‌های تراژنی»

تست ۱۸ **در مهندسی ژنتیک برای ..... کاربرد ندارد.**

۱) ساخت جانور تراژنی، دیسک
۲) تولید پروتئین‌های پیچیدهٔ انسانی، عامل رونویسی
۳) تولید هورمون انسولین، جانور تراژنی
۴) ژن‌درمانی کردن، ناقل ژنی غیردیسکی

پاسخ ۳ تولید انسـولین در مهندسـی ژنتیک توسـط **باکتری‌ها** صورت می‌گیرد نه جانوران تراژنی!

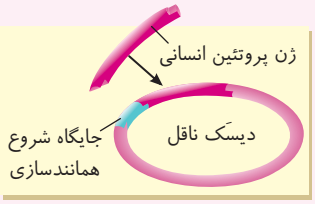
- در تولید **جانوران** تراژنی، ابتدا باید ژن مورد نظر انسانی را با دیسک باکتریایی وارد تخم دام کنیم (*نادرستی گزینهٔ (۱)*).
- تولید پروتئین‌های پیچیدهٔ انسانی توسط دام‌ها و سیستم‌های یوکاریوتی دارای عامل رونویسی صورت می‌گیرد (*نادرستی گزینهٔ (۲)*).
- در روش‌های ژن‌درمانی می‌توان از ناقل ژنی **ویروسی** استفاده کرد که دیسکی نمی‌باشند و فاقد ژن مقاومت به پادزیست هستند (*نادرستی گزینهٔ (۴)*).

تست ۱۹ **در مراحل مورد نیاز برای تولید پروتئین‌های انسانی در دام‌های تراژنی نیازی به انجام کدام مورد زیر نمی‌باشد؟**

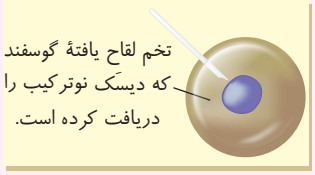
۱) قرار دادن ژن انسانی در بخشی از ژنوم باکتری
۲) بیان ژن انسانی در باکتری
۳) انتقال دیسک نوترکیب به یاخته تخم دام
۴) تولید دامی که همه یاخته‌های هسته‌دار او واجد ژن انسانی می‌باشد.

پاسخ ۲ در روش‌های تولید جانوران دامی تراژنی باید دنای نوترکیب را به تخم یک دام اضافه کنیم تا این ژن‌ها توسط دام تکثیر و بیان شوند.

تله‌های تستی گزینهٔ (۱): برای انتقال ژن انسـانی به دام باید از دیسـک ناقل ژنی استفاده کنیم، که جزء ژنوم کمکی باکتری‌ها به حساب می‌آید.



گزینهٔ (۳): بعد از تولید دنای نوترکیب، مجموعهٔ ناقل ژنی نوترکیب را وارد یاختهٔ تخم دامی می‌کنند.



گزینهٔ (۴): در انتها دامی تراژن از تکثیر تخم تغییر یافته ایجاد می‌شود که در همهٔ یاخته‌های آن ژن مربوط به پروتئین انسانی وجود دارد ولی این ژن در یاخته‌های پستان دام بیان شده و در شیر دام ظاهر می‌شود.

زیست‌فناوری و اخلاق

شاخهٔ علمی زیست‌فناوری نیز مانند هر شاخهٔ علمی دیگری می‌تواند مضرات **اخلاقی، اجتماعی و ایمنی زیستی** داشته باشد، در نتیجه باید با ملاحظاتی همراه باشد. به همین دلیل قانون ایمنی زیستی در همهٔ کشورها از جمله ایران! تدوین و به تصویب رسیده است. در قانون ایمنی زیستی، تدابیر، مقررات و روش‌هایی برای تضمین بهره‌برداری از این فنون وجود دارد **تا آسیبی به اخلاق بشری و محیط‌زیست** نرساند. مثلاً به دلیل محرمانه بودن اطلاعات ژنتیکی و پزشکی افراد، این شاخه می‌تواند مورد سوء استفاده قرار گیرد یا مثلاً ممکن است با این روش بتوان **سلاح‌های زیستی** ایجاد کرد که **افراد را به داروهای خاصی مقاوم کنند** یا در مواد غذایی اختلالی ایجاد کنند. به همین دلیل همواره سؤال‌های متعددی در مورد نتایج کاربردهای زیست‌فناوری وجود داشته و دارد که برای پاسخ به آن‌ها پژوهش‌های زیادی در حال انجام می‌باشد. البته نتایج پژوهش محققین توسط مجموعه‌ای از دانشمندان با تخصص‌های مختلف (*نه‌فقط زیست‌شناسی*) داوری شده و صدور مجوز نهایی داده می‌شود و **تاکنون و طبق نتایج تحقیقات، هیچ‌گونه گزارشی در مورد خطرناک بودن محصولات و آثار جانبی مخرب آن‌ها اعلام نشده است.**

چند نکتهٔ مهم

۱) دستاوردهای علمی زیست‌فناوری باید مانند سایر دستاوردهای بشری، ملاحظات اخلاقی، اجتماعی و ایمنی زیستی را دربر بگیرد.

۲) ایمنی زیستی شامل مجموعه‌ای از تدابیر، مقررات و روش‌هایی برای تضمین بهره‌برداری از فنون بدون آسیب به انسان می‌باشد.

۳) تاکنون از نتایج تحقیقات انجام شده در این شاخه، هیچ گزارشی مبنی بر شواهد و داده‌های علمی آثار جانبی این فناوری نبوده است.

نکاتی از فصل اول زیست دهم

۱) مهندسان ژن می‌توانند ژن‌های انسانی را به گیاهان، جانوران یا حتی باکتری‌ها وارد کنند.

۲) محرمانه بودن اطلاعات ژنی و پزشکی افراد، فناوری‌های ژن‌درمانی، ایجاد جانوران تراژن و حقوق جانوران از موضوعات **اخلاق زیستی** می‌باشد.

۳) در حال حاضر، روش **پزشکی شخصی** می‌تواند به بررسی اطلاعات ژنی افراد بپردازد و روش‌های دارویی و درمانی خاص هر فرد را طراحی کند.

نکتهٔ آخر: البته در پایان ذکر می‌شود که نمی‌شود صد درصد به همه چیز اعتماد کرد و باید همواره تحقیقاتی برای جلوگیری از سوء استفاده‌های ممکنه از هر علمی از جمله علم زیست‌شناسی صورت بگیرد.☺