



فصل ۷

فناوری‌های نوین زیستی

آیا تاکنون درباره تولید **پلاستیک‌های زیستی** و **قابل تجزیه** شنیده‌اید؟ بله. مانند پلی هیدروکسی آلکانوآت‌ها یا Poly Hydroxy Alkanates (PHA) که به وسیله باکتری *Sinorhizobium meliloti* ساخته می‌شوند.

با توجه به اهمیت **محیط زیست** و حفظ آن، تولید و استفاده از چنین پلاستیک‌هایی راهکار مناسبی برای پیشگیری از مصرف بی‌رویه پلاستیک‌های **غیر قابل تجزیه** است. امروزه به کمک روش‌های **زیست‌فناوری**، تولید پلاستیک‌های قابل تجزیه با صرف **هزینه کمتر** ممکن شده است. این کار با **وارد کردن ژن‌های** تولید کننده **بسیاری** از این نوع مواد از **باکتری** به **گیاه** امکان پذیر است.

چگونه می‌توان از فناوری‌های زیستی برای **بهبود زندگی انسان** و **حفظ محیط زیست** استفاده کرد؟ با انتقال ژن از گروهی از جانداران به جانداران دیگر آیا می‌توان با استفاده از آنها **همه مشکلات** بشر را حل کرد؟ **خیر**.

انسان از نظر **اخلاقی** تا چه حد می‌تواند این فناوری‌ها را به خدمت بگیرد؟ تا حدی که حقوق انسان‌ها پایمال نشود و محیط زیست آسیب نبیند. در این فصل با این فناوری‌ها آشنا می‌شویم و می‌توانیم در آخر، به بخشی از پرسش‌های مطرح شده در مورد این فناوری‌ها پاسخ دهیم.

نکاتی در مورد پلاستیک‌های قابل تجزیه

(۱) امروزه تولید پلاستیک‌های زیستی و قابل تجزیه با انتقال ژن‌های آنها به گیاهان **امکان‌پذیر** شده است.

(۲) پلاستیک‌های قابل تجزیه از نظر شیمیایی **متنوع** بوده، پس آنزیم‌ها و ژن‌های درگیر در تولید آنها هم **متعدد** و **متنوع** هستند.

+ این ژن‌ها در طبیعت روی **DNA** **معلق** وجود داشته و به ترتیب به وسیله RNA پلی‌مراز پروکاریوتی و ریبوزوم **کوچک** و **ساده** رونویسی و ترجمه می‌شوند!

زیست فناوری و مهندسی ژنتیک

گفتار ۱

همان طور که می دانیم **جهش** در یک ژن و در نتیجه، تغییر در **محصول** آن می تواند به بروز بیماری منجر شود. به عنوان مثال اختلال در عملکرد و مقدار عوامل مؤثر در **انعقاد خون** مانند **فاکتور VIII** از این دسته هستند. با توجه به افزایش افراد نیازمند به این ترکیبات، تأمین نیاز دارویی آنها با مشکل مواجه می شود.

امروزه استفاده از روش های **زیست فناوری و مهندسی ژنتیک** تحولات مهمی در زمینه تولید چنین فراورده هایی فراهم آورده است. تا چندی پیش، **انتقال** ژن های انسان به داخل یاخته های سایر موجودات زنده و یا استفاده از **باکتری ها** برای ساختن پروتئین های **انسانی** غیرقابل تصور بود اما اکنون روش های لازم برای تحقق آن توسعه یافته و کاربرد فراوانی پیدا کرده است.

آیا می دانید چگونه می توان از **باکتری** برای ساختن یک **پروتئین انسانی** استفاده کرد؟ بله، با **انتقال ژن انسان** به درون ژنوم باکتری فرض کنید می خواهیم باکتری را برای ساختن **هورمون رشد انسانی** تغییر دهیم، پس ضرورت دارد تمام **احتیاجات این فرایند** را در یاخته باکتری فراهم کنیم. در ادامه مطلب با مراحل این روش آشنا خواهیم شد.

نکاتی در مورد اهمیت فناوری زیستی

- (۱) وقوع **جهش** در یک ژن و تغییر در محصول آن یعنی **پروتئین** یا **آنزیم** می تواند به بروز بیماری منجر شود.
- + به عنوان مثال اختلال در عملکرد و مقدار عوامل مؤثر در انعقاد خون مانند پروتئینی به نام **فاکتور VIII**، مانع از تشکیل لخته خون می شود.
- (۲) با توجه به **افزایش** تعداد بیماران، تأمین نیاز دارویی آنها از منابع انسانی یا خون های اهدایی با **مشکل** مواجه می شود.
- (۳) امروزه با استفاده از روش های **زیست فناوری و مهندسی ژنتیک** تحول مهمی در زمینه تولید فراورده هایی زیستی فراهم شده است.
- (۴) امروزه برای ساختن یک **پروتئین انسانی** می توان از **باکتری** استفاده کرد. این روش، با **انتقال ژن انسان** به درون ژنوم باکتری انجام می گیرد.

نکاتی در مورد انعقاد خون

- (۱) بر اساس کتاب، عوامل مؤثر در **انعقاد خون** عبارتند از:
 - + عوامل **پروتئینی**: آنزیم پروترومبیناز، پروترومبین، فیبرینوژن، فاکتور **انعقادی VIII** و ...
 - x عوامل پروتئینی ذیل در انعقاد خون، بر روی ژنوم انسان دارای ژن هستند.
 - x ترومبین و فیبرین هر **پند** از عوامل پروتئینی تشکیل لخته محسوب می شوند ولی ژنی برای آنها وجود ندارد!
 - ترومبین و فیبرین به ترتیب بر اثر **فعالیت** آنزیم پروترومبیناز و ترومبین از پروترومبین و فیبرینوژن به وجود می آیند.
 - + عوامل غیر پروتئینی: **ویتامین K**، **یون کلسیم** و ...
 - x عوامل غیر پروتئینی ذیل در انعقاد خون، بر روی ژنوم انسان دارای ژن نیستند.



- (۲) بر اساس کتاب، عوامل **ضد انعقاد** نیز عبارتند از:
 - + عوامل پروتئینی مانند آنزیم **پلاسمین** که به وسیله **سلول های کبدی** ساخته شده و **لخته ها** یعنی رشته های فیبرین را تجزیه می کند.
 - عوامل پروتئینی ضد انعقاد خون، بر روی ژنوم دارای ژن هستند.
 - + عوامل غیر پروتئینی مانند **هپارین** که توسط **بازوفیل ها** ساخته شده و با غیر فعال نمودن ترومبین، پروترومبیناز و ... مانع تشکیل لخته می شوند.

زیست فناوری چیست؟

به طور کلی به هرگونه فعالیت **هوشمندانه** آدمی در تولید و بهبود محصولات **گوناگون** با استفاده از موجود زنده، **زیست فناوری** گویند.

زیست فناوری قلمروی بسیار **گسترده** دارد و روش هایی مانند **مهندسی ژنتیک**، **مهندسی پروتئین** و **مهندسی بافت** را در برمی گیرد.

زیست فناوری از گرایش های علمی متعدد مانند **علوم زیستی**، **فیزیک**، **ریاضیات** و **علوم مهندسی** بهره می برد (**کل نگر**).

کاربردهای **فراوان** زیست فناوری، آن را به عنوان **نشانه پیشرفت** کشورها در قرن حاضر و به یکی از **ابزارهای** مهم برای تأمین نیازهای **متنوع** تبدیل کرده است.

تاریخچه زیست فناوری

برای زیست فناوری، که از سال های **بسیار دور** آغاز شده است، **سه دوره** در نظر می گیرند:

+ **زیست فناوری سنتی:** تولید محصولات تخمیری مانند **سرکه** (تخمیر الکلی)، **نان** (تخمیر الکلی) و **فراورده‌های لبنی** (تخمیر لاکتیکی) با استفاده از فرایندهای زیستی مربوط به این دوره است. **عدم آگاهی** از جزئیات موضوع و فقط با استفاده از قارب ثود و پیشینیان!

+ **زیست فناوری کلاسیک:** با استفاده از روش‌های تخمیر و **کشت** ریزجانداران (میکروارگانیسم)ها تولید موادی مانند **پادزیست‌ها**، **آنزیم‌ها** و **مواد غذایی** در این دوره ممکن شد. **آگاهی** از جزئیات موضوع و با استفاده از کشت میکروارگانیسم‌های شناخته شده!

+ **زیست فناوری نوین:** این دوره با **انتقال ژن** از یک **ریز جاندار** به **ریز جاندار** دیگر آغاز شد. دانشمندان توانستند با تغییر و اصلاح خصوصیات ریزجانداران ترکیبات جدید را با **مقادیر بیشتر** و **کارایی بالاتر** تولید کنند. **انتقال ژن‌های** مربوط به پروتئین‌ها و آنزیم‌ها از یک موجود به موجود دیگر!

نکته پالشی: در همه روش‌های زیست‌فناوری نوین، انتقال ژن از یک جاندار به جاندار دیگر انجام نمی‌شود!

در زیست فناوری، برای تولید محصولات گوناگون با استفاده از موجود زنده، روش‌های مختلفی وجود دارد از جمله:

(۵) مهندسی دافت

(۲) مهندسی و مونتئج

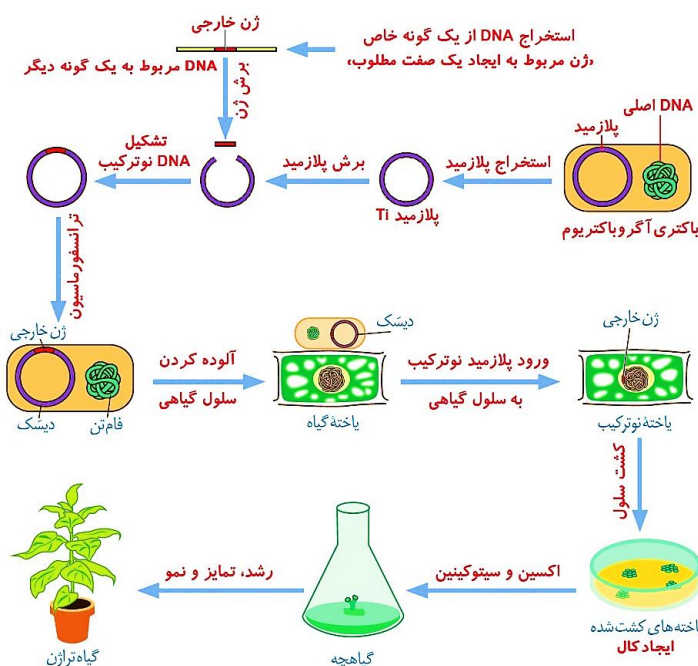
(1) مهندسی ژنتیک

مهندسی ژنتیک

یکی از روش‌های مؤثر در زیست‌فناوری نوین، مهندسی ژنتیک است. در مهندسی ژنتیک قطعه‌ای از DNA یک یاخته توسط ناقل به یاخته‌ای دیگر انتقال می‌یابد. در این حالت، یاخته در بافت‌کننده قطعه DNA دچار دست‌ورزی ژنتیکی و دارای صفت جدید می‌شود.

به جاننداری که از طریق مهندسی ژنتیک دارای ترکیب جدیدی از مواد ژنتیکی **گونه دیگر!!!** شده است، جاندار **تغییر یافته ژنتیکی** یا **تراژنی** می‌گویند. گرچه این روش **ابتدا با باکتری‌ها** شروع شد؛ اما پیشرفت‌های **بعدی**، امکان **دست‌ورزی ژنتیکی** برای سایر موجودات زنده مثل **گیاهان و جانوران** را نیز فراهم کرد. منظور از **جاندار دست‌ورزی شده**، **جاندار** است که در ژنوم خود ژن مربوط به **جاندار دیگری** را دارد.

مثلاً مراحل ایجاد گیاهان زراعی، ترازنی، از طریق مهندسی ژنتیک را می‌توان به صورت زیر خلاصه کرد:



١- تعیین صفت یا صفات مطلوب

۲- استخراج ژن یا ژن‌های صفت مورد نظر

۳- آماده‌سازی و انتقال ژن به گیاه

۴- تولید گیاه تراژنی

۵- بررسی دقیق، ایمنی، زیستے و اثبات ہے، خطر ہونے پر ای سلامت

انسان و محیط زیست

۶- تکثیر و کشت گیاه تراژنی با رعایت اصول ایمنی زیستی

شکل ۱ بعضی از این مراحل را نشان می‌دهد.

شکل ۱- روش عمومی تولید یک گیاه تراژنه.

۱) ژن خارجی از پلازمید Ti جدا شده و به ژنوم گیاه متصل می‌شود!

(۲) انتظار می‌رود در این مورد، ژن خارجی مستقل از چرخه سلولی تکثیر نشود!

۱۳) تشکیل پلازمید **طلقوی** **نو ترکیب** در **بیرون** از سلول **باکتری** انجام شده است!

۱۴) تشکیل DNA فطری نو ترکیب در درون سلول گیاهی میزبان انجام شده است!

نکات مهم در مورد زیست فناوری

(۱) **تعریف:** هرگاه انسان برای تولید و بهبود محصولات گوناگون جانداران به صورت **هوشمندانه** از موجد دیگری استفاده کند، از **زیست فناوری** استفاده نموده است.

+ محصولات می‌توانند مواد آلی به ویژه پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها، سلول‌ها، بافت‌ها و حتی اندام‌ها باشند!

(۲) ویژگی‌ها: زیست‌فناوری دارای ویژگی‌های زیر است:

+ قلمروی بسیار گسترده دارد و روش‌هایی مانند مهندسی ژنتیک، مهندسی پروتئین و مهندسی بافت را در برمی‌گیرد.

+ از گرایش‌های علمی متعددی مانند علوم زیستی، فیزیک، ریاضیات و علوم مهندسی بهره می‌برد (کاج‌نگری).

(۱۳) دوره‌ها: زیست‌فناوری از سال‌های بسیار دور آغاز شده و دارای سه دوره بوده است:

+ زیست فناوری سنتی: در این دوره، انسان از جزئیات موضوع آگاهی نداشته و فقط با استفاده از تعارف **پیشینیان** عمل می‌نموده است.

x مانند تولید محصولات تکمیلی

تقويم الكلج

❁ تولید سرکه: ابتدا با استفاده از مخمرها از قند گلوکز موجود در میوه‌ها، الکال تهیه می‌نموده و سپس الکال را به سرکه تبدیل می‌نموده است.

❁ تولید نان: با استفاده از ماه خمیر که حاوی **مغیر** بوده، خمیر ورآمده تهیه و با آرن، نان **ترد** و **قاباج** **هضم** تولید می‌نموده است.

- تعمیر لاکتیکی

- * تولید فراورده‌های لبنی: با استفاده از مایه ماست که حاوی **باکتری** تعمیرکننده بوده، لاکتوز **شیر** را به لاکتیک (اسید) تبدیل می‌نموده است.
- * تولید مواد غذایی شور: با استفاده از **باکتری**‌های خاص تعمیرکننده و محلول غلیظ نمک، فراورده‌های غذایی مانند **خیار شور** تولید نموده است.
- + زیست‌فناوری کلاسیک: در این دوره، انسان از **جزئیات** موضوع آگاهی داشته و با **کشت میکروارگانیسم‌ها** محصولات گوناگونی تولید می‌کرده است.
- x تولید **آنتی‌بیوتیک‌ها** یا پادزیست‌ها با استفاده از روش‌های کشت **کپک‌ها** و **باکتری‌ها**
- x تولید **آنزیم‌های گوناگون** از جمله سلولاز، آمیلاز و ... با استفاده از کشت **باکتری‌ها**
- x تولید مواد غذایی گوناگون مانند ماست، انواع پنیر و دیگر محصولات لبنی، خیارشور و ...
- + زیست‌فناوری نوین: در این دوره، انسان با استفاده از **انتقال ژن** توانست پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف یک موجود را در موجود دیگری تولید نماید.
- x این دوره با انتقال ژن از یک میکروارگانیسم به میکروارگانیسم دیگر آغاز شد.
- x دانشمندان توانستند با تغییر و اصلاح خصوصیات میکروارگانیسم‌ها **ترکیبات جدیدی** را با مقادیر بیشتر و کارایی بالاتر تولید کنند.
- x در زیست‌فناوری نوین، برای تولید محصولات گوناگون با استفاده از موجود زنده، **روش‌های مختلفی** وجود دارد از جمله:
- روش مهندسی ژنتیک: در این روش قطعه‌ای از DNA یک سلول توسط یک **ناقل** یا **وکتور** به سلول دیگری **منتقل** می‌شود.
- * سلول دریافت‌کننده قطعه DNA چهار **دست‌ورزی ژنتیکی** و می‌تواند **مصول جدیدی** تولید نماید. این سلول را **سلول نو ترکیب** نیز می‌گویند!
- * اصطلاح «دست‌ورزی» را برای همه سطوح یعنی ژن، مولکول DNA، کروموزوم، ویروس، سلول و جاندار به کار می‌برند.
- * اصطلاح «نو ترکیب» را فقط در مورد مولکول DNA و هم در مورد ویروس و سلول به کار می‌برند.
- * جاندار **تک‌سلولی** یا **پرسلولی** که از طریق مهندسی ژنتیک دارای ترکیبی از مواد ژنتیکی **گونه دیگر** شده است، **جاندار تراژنی** می‌گویند.
- * اصطلاح «تراژن» را فقط در مورد موجودات زنده شامل موجودات تک‌سلولی و موجودات پرسلولی به کار می‌برند.
- روش مهندسی پروتئین: در این روش پروتئین‌هایی **مقاوت** از پروتئین‌هایی که در طبیعت وجود دارند، تولید می‌شوند.
- * به طور کلی این پروتئین‌های مهندسی شده به **دو** شیوه تولید می‌شوند:
- * **روش اول:** با **دستکاری نوکلئوتیدهای ژن** مربوط به یک پروتئین خاص و **انتقال** این ژن دستکاری شده به میزبان
- * این روش منطقی‌تر بوده و بیشتر **مرسوم** است.
- * **روش دوم:** با **دستکاری آمینواسیدهای پروتئین** طبیعی در آزمایشگاه و **ایجاد** تغییر یا تغییرات شیمیایی در آنها
- * این روش به **ندرت** مورد استفاده واقع می‌شود.
- روش مهندسی بافت: در این روش با استفاده از **سلول‌های بنیادی** جنینی یا بالغ می‌توانند به بافت‌ها و اندام‌های گوناگون برسند.

مراحل مهندسی ژنتیک

یکی از اهداف مهندسی ژنتیک تولید انبوه ژن و فراورده‌های آن یعنی RNA و پروتئین است. تولید انبوه ژن با **همسانه‌سازی دنا** انجام می‌شود. جداسازی یک یا چند ژن و **تکثیر** آنها را همسانه‌سازی دنا می‌گویند. در همسانه‌سازی دنا ماده وراثتی با ابزارهای **مختلفی** از جمله آنزیم‌های **برش‌دهنده**، تکنیک **الکتروفورز** در ژل، **پرایمرهای نشان‌دار شده** و ... در **خارج از یاخته** تهیه و به وسیله یک **ناقل** همسانه‌سازی به درون ژنوم میزبان منتقل می‌شود. هدف از این کار تولید **مقادیر زیادی** از دنا **خالص** است که می‌تواند برای (۱) **دست‌ورزی**، (۲) **تولید یک ماده بخصوص** و یا (۳) **مطالعه** مورد استفاده قرار گیرد.

خلاصه‌ای از مراحل مهندسی ژنتیک

- هدف: یکی از اهداف مهندسی ژنتیک تولید انبوه ژن و فراورده‌های آن یعنی RNA و پروتئین است.
- مقاصد: تولید انبوه ژن تولید مقادیر زیادی از DNA خالص است که می‌تواند برای مقاصد زیر مورد استفاده قرار گیرد:
 - + انجام دست‌ورزی ژنتیکی جانداران دیگر به وسیله این ژن
 - + تولید فراورده‌های خاص از قبیل پروتئین‌های ویژه با استفاده از بیان این ژن
 - + مطالعه توالی نوکلئوتیدی این ژن خاص و مقایسه آن با ژن‌های دیگر یا نظیر همین ژن در موجودات مختلف
- روش کار: تولید انبوه ژن با روشی به نام **همسانه‌سازی DNA** انجام می‌شود.

+ مراحل همسانه‌سازی DNA

- x **برش دادن** قطعات DNA حاوی یک یا چند ژن به وسیله آنزیم‌های **برش‌دهنده**
- x **تفکیک** قطعات DNA حاصل از برش بر اساس اندازه با تکنیک **الکتروفورز** در ژل
- x **پیدا کردن** قطعه DNA مورد نظر از میان دیگر قطعات به کمک **پرایمرهای نشان‌دار شده**
- x **انتقال** قطعه DNA مورد نظر به درون ژنوم میزبان با کمک یک **ناقل همسانه‌سازی**

- ناقل همسانه‌سازی یک توالی DNA و **فارچ** از کروموزوم‌های اصلی است که می‌تواند به **طور مستقل** تکثیر شود. مانند:

• **پلازمیدها** یا DNAهای فرعی باکتری‌ها یا مضمهرها • **ویروس‌های DNAدار** مانند باکتریوفاژ

x **تکثیر** این ژن یا ژن‌ها به وسیله یک **باکتری** (بر اساس کتاب!)

- امروزه با استفاده از تکنیک PCR می‌توانند کپی‌های بی‌شماری از یک مولکول DNA به دست آورند.

برای این منظور **مراحل** زیر انجام می‌شود:

مرحله (اول) جداسازی قطعه‌ای از دنا

+ این کار به وسیله **آنزیم‌های برش‌دهنده** انجام می‌شود. بنابراین آنزیم مهم در این مرحله **آنزیم برش‌دهنده** است.

+ این آنزیم‌ها از اندونوکلازهای پروکاریوتی بوده در **باکتری‌ها** وجود دارند و **قسمتی** از سامانه دفاعی آنها **(نه همه آن!)** محسوب می‌شوند.

+ **اولین** مرحله از همسانه‌سازی **جداسازی** ژن‌ها است و به وسیله این آنزیم‌ها انجام می‌شود.

+ این آنزیم‌ها **توالی‌های نوکلئوتیدی خاصی** را در دنا تشخیص و **برش** می‌دهند.

x مثلاً آنزیم **EcoRI** توالی شش جفت نوکلئوتیدی **GAATTC** را **شناسایی** و **برش** می‌دهد.

- به این توالی **جایگاه تشخیص آنزیم** گفته می‌شود (شکل ۲).

- این آنزیم **اولین** آنزیم برش‌دهنده شناخته شده در باکتری *E. coli* است.

شکل ۲- برش مولکول دنا توسط آنزیم **EcoRI**. جایگاه تشخیص آنزیم به صورت یک **توالی خاص** است.

این توالی‌ها را پالیندروم (Palindrome) می‌گویند که مشابه صنعت قلب کامل یا مستوی در ادبیات هستند.

+ به عنوان مثال کلماتی مانند توت، دود گرگ، داماد و ... این گونه‌اند.

+ بیت زیر نیز از صنعت پالیندروم یا قلب مستوی بهره می‌برد. ©©©

شو همزه بلبل بلب هر مهوش

شکر بترازی وزارت برکش

+ همان طور که در شکل می‌بینید در جایگاه تشخیص آنزیم، توالی نوکلئوتیدهای هر دو رشته دنا از **دو سمت مخالف یکسان** خوانده می‌شود.

+ این آنزیم پیوند **فسفودی‌استر** بین نوکلئوتید **گوانین‌دار** و **آدنین‌دار** هر دو رشته را **برش** می‌زند.

x در نتیجه، انتهای از مولکول دنا ایجاد می‌شود که یک رشته آن **بلندتر** از رشته مقابل است و به آن **انتهای چسبنده** می‌گویند.

+ برای تشکیل چنین انتهای، **علاوه** بر پیوندهای **فسفودی‌استر**، پیوندهای **هیدروژنی** بین دو رشته دنا در منطقه تشخیص نیز شکسته می‌شوند.

+ استفاده از آنزیم‌های برش‌دهنده، دنا را به **قطعات کوتاه‌تری** تبدیل می‌کند. این قطعات را با روش‌های خاصی **جدا** می‌کنند و **تشخیص** می‌دهند.

x جدا نمودن قطعات برش داده شده با تکنیک الکتروفورز در ژل انجام می‌شود.

x تشخیص دادن قطعات نیز با استفاده از پرایمرهای نشان‌دار شده صورت می‌گیرد.

نکاتی در مورد آنزیم‌های برش‌دهنده

(۱) **اولین** مرحله از همسانه‌سازی DNA که **جداسازی ژن‌ها** است، به وسیله آنزیم‌های برش‌دهنده انجام می‌شود.

(۲) آنزیم‌های برش‌دهنده دارای **ویژگی‌های** زیر هستند:

+ این آنزیم‌ها در باکتری‌ها یعنی **پروکاریوت‌ها** وجود دارند و **قسمتی** از سیستم دفاعی آنها **(نه همه آن!)** محسوب می‌شوند.

+ سیستم دفاعی دیگری که در باکتری‌ها وجود دارد آنزیم **Cas9** است. این سیستم هم با فعالیت آنزیمی DNAهای بیگانه را برش می‌زند.

x در تکنیک **CRISPR/Cas9** می‌توان از این آنزیم به همراه یک توالی کوتاه **RNA** به نام **Guide RNA** در ویرایش ژن بهره برد.

- نام کامل آنها در زیر آمده است:

Clustered, Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats = CRISPR

CRISPR-associated Protein no. 9 = Cas9

+ نحوه عمل این آنزیم‌ها به این صورت است که اگر یک ویروس، DNA خود را به درون سلول باکتری وارد کند این آنزیم‌ها آن را **تکه‌تکه** می‌کنند!

x بآلب است بدانیم نقاط تشخیصی این آنزیم‌ها بر روی ژنوم خود باکتری با پدیده **متیلاسیون** از گزند آن در **امان** می‌مانند.

+ این آنزیم‌ها نوعی **اندونوکلاز** بوده که پیش‌ماده آنها مولکول‌های **بزرگ DNA** و فرآورده‌های آن نیز قطعات **کوچک‌تر DNA** هستند.

x به عبارت دیگر پیش‌ماده و فرآورده این نوع آنزیم‌ها یک نوع ماده یکسان با طول **کمتر** یا **مساوی**!!! است.

+ ژن مسئول تولید این آنزیم‌ها روی DNA **معلق** وجود داشته و به وسیله RNA پلی‌مراز پروکاریوتی و ریبوزوم کوچک و ساده رونویسی و ترجمه می‌شوند!

+ این آنزیم‌ها توالی‌های خاصی را در بخش خاصی از مولکول DNA که خاصیت «پالیندرومی» دارد تشخیص داده و با فعالیت نوکلئازی **برش** می‌دهند.

x به این توالی‌ها جایگاه تشخیص آنزیم می‌گویند. توالی‌های پالیندرومی دارای **تقارن نقطه‌ای** هستند:



- به عنوان مثال آنزیم **EcoRI** اولین آنزیم برش‌دهنده شناخته شده در باکتری *E. coli*:

• توالی شش جفت نوکلئوتیدی فوق را شناسایی و دو پیوند فسفودی‌استر بین نوکلئوتیدهای **کوانین دار** و **آدنین دار** در هر دو رشته را برش می‌دهد.

• نکته مهم این که شکسته شدن این پیوندها منجر به تشکیل نوکلئوتید **نمی‌شود!**

+ در نتیجه، انتهایی از مولکول دنا ایجاد می‌شود که یک رشته آن **بلندتر** از رشته مقابل است.

x در انتهای قطعات، بخشی از DNA دارای یک رشته است و به دلیل تمایل به تشکیل پیوند هیدروژنی به آن انتهای **پسبند** می‌گویند.

- به دلیل تک‌رشته‌ای بودن، در این بخش رابطه مکملی و پیوند هیدروژنی وجود **ندارد!**

- اما جالب است بدانیم این بخش دارای رابطه **پارکاف** است!

- انتهای پسبند حاصل از آنزیم EcoRI دارای دو باز پورینی (AA) و دو باز پیریمیدینی (TT) است.

x برای تشکیل انتهای پسبند دو نوع پیوند شکسته می‌شود:

- تعداد دو پیوند فسفودی‌استر به وسیله خاصیت نوکلئاری آنزیم شکسته می‌شوند.

- تعداد هشت پیوند هیدروژنی در منطقه تشخیص نیز به دلیل **سنگین بودن** قطعات! و جنبش مولکولی شکسته می‌شوند.

(۱۳) هر آنزیم برش‌دهنده در جایگاه تشخیص خود **همواره** تعداد دو پیوند فسفودی‌استر را می‌شکند.

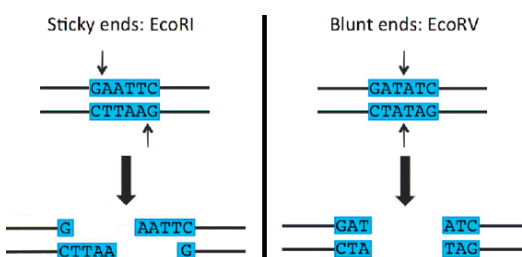
+ در نتیجه این عمل **ممکن است** تعدادی پیوند هیدروژنی نیز شکسته شود!

x فقط آنزیم‌هایی که انتهای پسبند ایجاد می‌کنند می‌توانند پیوند هیدروژنی هم بشکنند!

- در شکل روبه‌رو در نتیجه عمل آنزیم EcoRI **هشت** پیوند هیدروژنی شکسته می‌شود.

- در حالی‌که در نتیجه عمل آنزیم EcoRV **هیچ** پیوند هیدروژنی شکسته نشده است!

• این آنزیم انتهای پسبند نیز تشکیل **نمی‌دهد!**



(۱۴) **تعداد و طول** قطعات حاصل از برش یک مولکول DNA فرضی به تعداد جفت نوکلئوتیدهای موجود در **جایگاه تشخیص** آنزیم برش‌دهنده بستگی دارد.

+ هر چه تعداد جفت نوکلئوتیدها در جایگاه تشخیص **بیشتر** باشد، یک مولکول DNA فرضی را به قطعات **کمتر** با طول **بلندتری** برش می‌دهد!

+ هر چه تعداد جفت نوکلئوتیدها در جایگاه تشخیص **کمتر** باشد، همان مولکول DNA را به قطعات **بیشتر** با طول **کوتاهتری** برش می‌دهد!

(۱۵) نکات **دیگری** راجع به آنزیم‌های برش‌دهنده:

+ همواره به تعداد **دو برابر** جایگاه‌های تشخیص خود پیوند فسفودی‌استر می‌شکنند.

+ اگر پیش‌ماده آنها DNA **نطی** باشد به تعداد **یکی بیشتر** از جایگاه‌های تشخیص خود قطعه DNA **نطی** تشکیل می‌دهند.

+ اگر پیش‌ماده آنها DNA **معلقوی** باشد به تعداد **مساوی** با جایگاه‌های تشخیص خود قطعه DNA **نطی** تشکیل می‌دهند.

x مثلاً اگر یک آنزیم برش‌دهنده بر روی DNA **معلقوی** یک جایگاه تشخیص داشته باشد، ضمن عمل خود آن را به یک مولکول DNA **نطی** با **همان** تعداد

نوکلئوتید تبدیل می‌کند و قطعات کوچکتری تشکیل **نمی‌دهد!**

(۱۶) در صورت تشکیل انتهای پسبند، این آنزیم‌ها برای هر دو نوع DNA **معلقوی** و **نطی** به تعداد **دو برابر** جایگاه‌های تشخیص خود انتهای پسبند تولید می‌کنند.

مرحله دوم) اتصال قطعه دنا به ناقل و تشکیل دنا ی نوترکیب

+ مرحله بعدی، **اتصال** قطعه دنا ی جداسازی شده به **ناقل همسانه‌سازی** است.

+ این ناقلین، توالی‌های دنا ی هستند که در **خارج از فامتن اصلی** قرار دارند و می‌توانند **مستقل** از آن **تکثیر** شوند.

+ **یکی** از این مولکول‌ها دیسک (پلازمید) حلقوی باکتری است.

+ **این نوع** دیسک یک مولکول دنا ی **دو رشته‌ای** و **خارج فامتنی** است که معمولاً درون باکتری‌ها و درون هسته بعضی قارچ‌ها مثل **مخمرها** وجود دارد.

+ این نوع پلازمید می‌تواند **مستقل** از ژنوم میزبان همانندسازی کند.

+ دیسک‌ها را **فامتن‌های کمکی** نیز می‌نامند چون حاوی ژن‌هایی هستند که در فامتن اصلی باکتری وجود **ندارد**.

+ مثلاً ژن **مقاومت** به **پادزیست** در دیسک قرار دارد.

+ در صورت انتقال قطعه دنا ی مورد نظر به دیسک و ورود آن به یاخته میزبان، با هر بار همانندسازی دیسک، دنا ی مورد نظر نیز **همانندسازی** می‌شود.

+ **بهتر است** از دیسکی استفاده شود که فقط یک جایگاه تشخیص برای آنزیم **برش‌دهنده** داشته باشد.

x به نظر شما چرا؟ چون در این صورت یک برش در پلازمید ایجاد شده و دهان آن باز می‌شود ©© که می‌توان ژن خارجی را درون آن **باسازی** نمود.

+ شکل ۳ طرح ساده‌ای از دیسک دارای یک جایگاه تشخیص آنزیم EcoRI را نشان می‌دهد،

+ **بسیاری** از دیسک‌ها دارای ژن‌های **مقاومت** به پادزیست‌ها هستند.

+ چنین ژن‌هایی به باکتری این **توانایی** را می‌دهند که پادزیست‌ها را **تغییر** داده و به موادی **غیر کشنده** و **قابل استفاده** برای خود تبدیل کنند.

+ این ویژگی در مهندسی ژنتیک **اهمیت** زیادی دارد و با آن می‌توان باکتری‌های **نوترکیب** را از سایر باکتری‌ها **جد** نمود که در مباحث بعد به آن می‌پردازیم.

+ در ساخت یک دناى نو ترکیب، قطعه دناى حاوی توالی مورد نظر در دناى ناقل **جاسازی** می شود.

+ دانستید که برای جداسازی قطعه دناى مورد نظر از **نوعی** آنزیم برش دهنده استفاده می شود.

+ توجه داشته باشید آنزیم مورد استفاده برای برش دادن دیسک، **باید همان آنزیمی باشد** که در جداسازی دناى مورد نظر استفاده شده است.

x چرا؟ چون در این صورت انتهای چسبنده توالی مورد نظر و پلازمید، **مکمل** همدیگر خواهند بود و توالی خارجی به راحتی درون پلازمید **جاسازی** می شود.

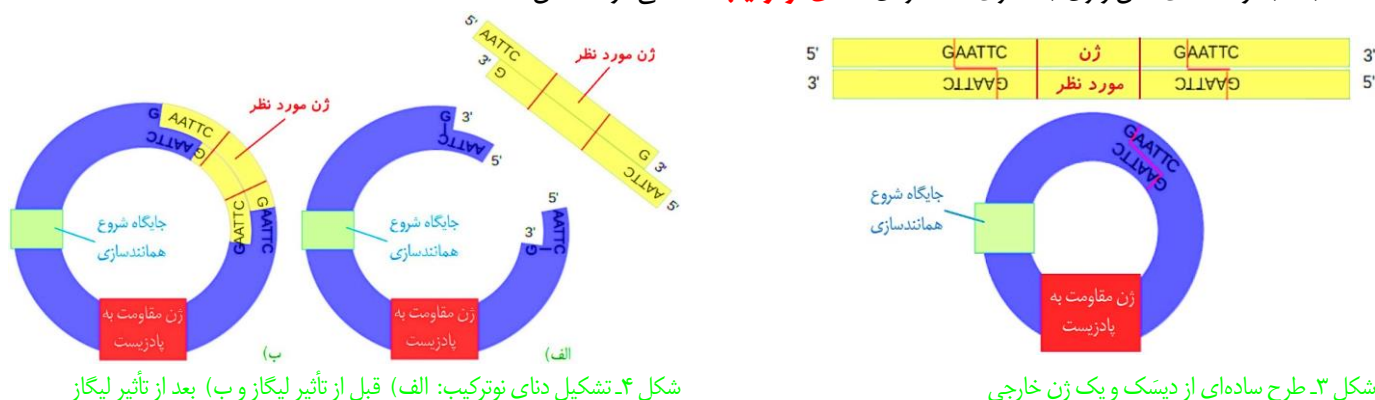
+ برش دیسک با آنزیم، آن را به یک قطعه دناى **خطی** تبدیل می کند که دارای **دو انتهای چسبنده** است.

+ همچنین قطعه دناى خارجی **نیز** دو انتهای چسبنده دارد. برای اتصال دناى مورد نظر به دیسک از **آنزیم لیگاز** (اتصال دهنده) استفاده می شود.

x برای اتصال دناى مورد نظر به پلازمید، می بایست **چهار** پیوند فسفودی استر! بین توالی مورد نظر و پلازمید تشکیل شود.

+ بنابراین **آنزیم مهم در این مرحله (آنزیم لیگاز)** است! این آنزیم پیوند **فسفودی استر** بین دو انتهای مکمل را ایجاد می کند.

+ به مجموعه دناى ناقل و ژن جاگذاری شده در آن، **دناى نو ترکیب** گفته می شود (شکل ۴).



شکل ۳- طرح ساده ای از دیسک و یک ژن خارجی

نکاتی در مورد تشکیل DNA نو ترکیب

(۱) ناقل های همسان سازی، توالی های از جنس DNA هستند که در **خارج** از کروموزوم اصلی قرار دارند و می توانند **مستقل** از آن تکثیر شوند.

+ **دو نوع** ناقل همسان سازی در کتاب درسی آورده شده است. **پلازمیدها** و **ژنوم ویروس ها**

x **پلازمیدها** مولکول های DNA دو رشته ای و **طلقوی** هستند که معمولاً در **باکتری ها** و درون هسته! بعضی قارچ ها مثل **مفمرها** وجود دارند.

- پلازمیدها را **کروموزوم های کمکی** نیز می گویند. زیرا حاوی ژن هایی هستند که در کروموزوم اصلی باکتری وجود ندارند.

• به عنوان مثال ژن های **مقاومت به آنتی بیوتیک ها** روی بسیاری از پلازمیدها وجود دارد.

• این ژن ها آنزیم هایی می سازند که آنتی بیوتیک ها را **تغییر** داده و به موادی **غیر کشنده** و **قابل استفاده** برای خود تبدیل کنند.

• از این ویژگی می توان در مرحله **چهارم** مهندسی ژنتیک استفاده نمود. زیرا باکتری های نو ترکیب را از سایرین **جد**ا می نماید.

• در مهندسی ژنتیک بهتر است از پلازمیدی استفاده شود که **قطر** یک جایگاه تشخیص برای آنزیم برش دهنده داشته باشد.

- پلازمیدها به عنوان یک مولکول DNA حلقوی، دو نوع هستند.

• پلازمیدهای **پروکاریوتی** در باکتری ها که به وسیله DNA پلی مرار و RNA پلی مرار نوع **پروکاریوتی** همانند سازی و رونویسی می شوند.

• پلازمیدهای **یوکاریوتی** در قارچ های متمر که به وسیله DNA پلی مرار و RNA پلی مرار نوع **II** یوکاریوتی! همانند سازی و رونویسی می شوند.

x **ژنوم ویروس ها** (مانند باکتریوفاژها و آبله گاو) که مولکول های DNA دو رشته ای و **نطی** به شما می آیند.

- پس از ورود ژنوم ویروس به سلول میزبان، این مولکول ها می توانند **مستقل** از ژنوم میزبان همانند سازی کنند.

(۲) برای ساخت یک مولکول **DNA نو ترکیب**، قطعه DNA حاوی توالی مورد نظر را در درون DNA ناقل **جاسازی** می کنند.

(۳) آنزیم مورد استفاده برای برش دادن پلازمید، **باید همان آنزیمی باشد** که در جداسازی DNA مورد نظر استفاده شده است.

+ زیرا انتهای چسبنده به وجود آمده در دو طرف توالی مورد نظر و پلازمید **مکمل** خواهند بود و توالی خارجی به راحتی درون پلازمید جاسازی می شود.

(۴) برش پلازمید، آن را به یک قطعه DNA **نطی** تبدیل می کند که دارای **دو** انتهای چسبنده است. همچنین قطعه دناى خارجی نیز **دو** انتهای چسبنده دارد.

(۵) برای اتصال DNA مورد نظر به پلازمید، یعنی تشکیل **پیوند فسفودی استر!** بین توالی مورد نظر و پلازمید از **آنزیم لیگاز** (اتصال دهنده) استفاده می شود.

+ نکته **بسیار مهم:** در تشکیل این پیوند فسفودی استر دو نوکلئوتید **مونوفسفاته** موجود در DNA شرکت می کنند، بنابراین گروه های فسفات آزاد نمی شوند!

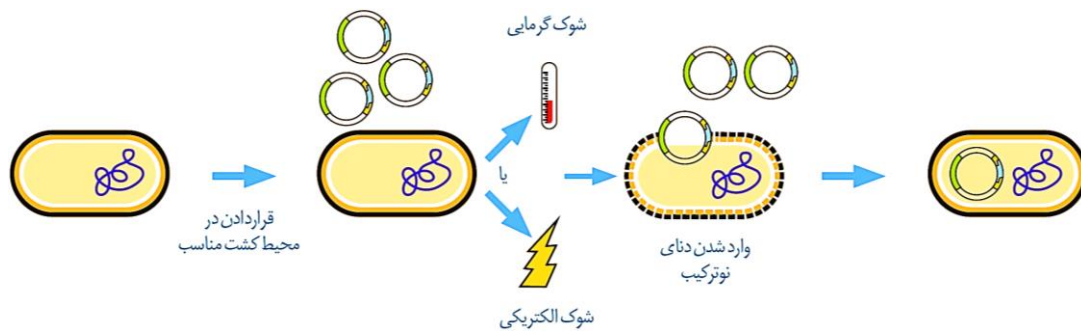
(۶) به مجموعه DNA ناقل به علاوه ژن جاگذاری شده در آن، **DNA نو ترکیب** گفته می شود.

(۷) اگر برای انتقال ژن خاصی از آنزیم برش دهنده **EcoRI** استفاده کنیم:

+ هنگام عمل آنزیم **برش دهنده**، جمعاً **شش** پیوند فسفودی استر و **۱۴** پیوند هیدروژنی **شکسته** می شود.

+ هنگام عمل آنزیم **اتصال دهنده**، جمعاً **چهار** پیوند فسفودی استر و **۱۶** پیوند هیدروژنی **تشکیل** می شود.

- + در این مرحله، دناى نوترکیب را به درون یاخته میزبان مثلاً باکتری منتقل می کنند (شکل ۵).
- + به این منظور باید در دیواره و غشای؟! باکتری منافذی ایجاد شود.
- + این منافذ را می توان با کمک (۱) شوک الکتریکی و یا (۲) شوک حرارتی همراه با مواد شیمیایی مانند یون کلسیم ایجاد کرد.
- + بر طبق اطلاعات آزمایشگاهی به دست آمده، مشخص شده همه باکتری ها دناى نوترکیب را دریافت نمی کنند.
- + بنابراین لازم است باکتری دریافت کننده دیسک از باکتری فاقد آن تفکیک شود.
- + ورود ماده وراثتی به درون باکتری، بدون شوک هم انجام پذیر است، مانند کپسول دار شدن باکتری های بدون کپسول در آزمایش های گریفیت و ایوری
- + بعد از ورود DNA نوترکیب به سلول میزبان، می بایست این مولکول مستقل از ماده وراثتی سلول میزبان به سرعت تکثیر شود.
- x بنابراین آنزیم های مهم در این مرحله آنزیم های همانندسازی یعنی هلیکاز و DNA پلیمراز هستند.



شکل ۵- وارد کردن دناى نوترکیب به یاخته میزبان

نکاتی در مورد ورود DNA به درون سلول

- (۱) مواد وراثتی از قبیل پلازمیدها با روش های مختلف از جمله ترانسفورماسیون می توانند حتی به صورت نوبه نودی از یک باکتری به باکتری دیگر انتقال یابند.
- + همان گونه که در باکتری های استرپتوکوکوس نومونیا مشاهده شد، ضمن انتقال افقی ژن، ویژگی های ژنتیکی دیگری به میزبان بدهند.
- (۲) بعد از انتقال مواد وراثتی، ژنوم باکتری گیرنده، بزرگ تر می شود، و بنابراین RNA ها و پروتئین های بیشتری هم خواهد ساخت.
- (۳) ممکن است ماده انتقال یافته یک پلازمید معمولی، یک پلازمید نوترکیب یا حتی بخشی از کروموزوم اصلی باکتری دهنده باشد.
- (۴) در مرحله سوم مهندسی ژنتیک، DNA نوترکیب را به روش های مختلفی وارد سلول های پروکاریوتی یعنی باکتری ها و یا سلول های یوکاریوتی می کنند.
- + ورود DNA نوترکیب به سلول های باکتری، جانوری، قارچی و گیاهی به صورت زیر خواهد بود:
- x باکتری ها: ابتدا باید در دیواره و غشای؟! باکتری منافذی ایجاد شود تا ماده وراثتی به روش ترانسفورماسیون جذب باکتری شود.

- این منافذ را به دو صورت ایجاد می کنند:

• با کمک شوک الکتریکی به تنهایی

• با کمک شوک حرارتی همراه با مواد شیمیایی مانند یون کلسیم

x یوکاریوت ها: انتقال ژن به سلول های یوکاریوت با روش های متفاوتی انجام می شود.

- سلول گیاهی: با استفاده از تفنگ ژنی و یا پلازمید تای (Ti (Tumour inducing

- سلول جانوری: با استفاده از توانایی این سلول ها در آندوسیتوز ذرات ویروسی ناقل ژن های خاص

- سلول قارچی: با استفاده از آنزیم های تجزیه کننده دیواره سلولی و پدیده ترانسفورماسیون

مرحله چهارم) جداسازی یا تفکیک یاخته های تراژنی (ر بقیه سلول ها)

+ برای انجام این مرحله، از روش های متفاوتی می توان استفاده کرد.

+ یکی از این روش ها استفاده از دیسکی است که دارای ژن مقاومت به پادزیستی مثل آمپی سیلین است.

+ اگر باکتری، دناى نوترکیب را دریافت کرده باشد، در محیط حاوی پادزیست رشد می کند.

x زیرا این باکتری ها، پلازمید نوترکیب حاوی ژن مقاومت به آنتی بیوتیک را دریافت نموده اند.

+ باکتری های فاقد دناى نوترکیب به دلیل حساسیت به پادزیست در چنین محیطی از بین می روند (شکل ۶).

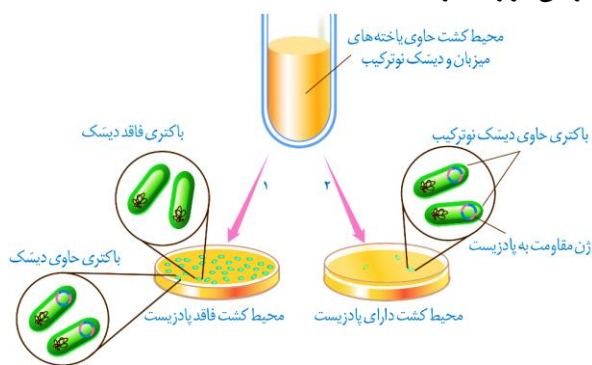
x پس آنزیم های مهم در این مرحله RNA پلیمراز و rRNA هستند.

+ در شرایط مناسب (نه در هر شرایطی)، باکتری های تراژنی با سرعت بالایی تکثیر می شوند.

+ از دنا های نوترکیب نیز به صورت مستقل از فام تن اصلی، نسخه های متعددی ساخته می شود که در نتیجه آن دناى خارجی به سرعت تکثیر می شود.

+ بنابراین، تعداد زیادی باکتری دارای دناى خارجی آماده خواهد شد که می توان از آنها (۱) برای تولید فراورده یا (۲) استخراج ژن استفاده کرد.

- + امروزه با پیشرفت روش‌های مهندسی ژنتیک می‌توان یاخته‌های دیگری مثل **مخمرها**، یاخته‌های **گیاهی** و حتی **جانوری** را با این فرایند تغییر داد.
- + **دناها** و سایر **مولکول‌های حاصل از دناهای تولید شده یعنی RNAها**، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و ... برای **اهداف گوناگون علمی و کاربردی** استفاده می‌شوند.
- + در گفتارهای بعدی این فصل به **برخی** از این موارد اشاره شده است.



شکل ۶ - جداسازی یاخته‌های تراژنی دارای دنا نوترکیب

نکاتی در مورد جداسازی سلول‌های تراژنی از بقیه سلول‌ها

- (۱) برای **جداسازی** باکتری‌های نوترکیب از بقیه باکتری‌ها از توانایی آنها در بیان ژن‌های مسئول تولید آنزیم‌های تجزیه کننده **آنتی‌بیوتیک** استفاده می‌شود.
- (۲) مقایسه **انتقال ژن** در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها
 - + در **پروکاریوت‌ها**: ژن خارجی به ژنوم **اصلی** سلول‌های باکتری متصل **نشده** و بنابراین مستقل از پرفه سلولی تکثیر می‌شود!
 - + در **یوکاریوت‌ها**: ژن خارجی به ژنوم **اصلی** سلول‌های گیاهی و جانوری متصل **شده** و بنابراین مستقل از پرفه سلولی تکثیر **نمی‌شود**!
- (۳) نکته نائز اهمیت این‌که **پس** از انتقال ژن در مهندسی ژنتیک ممکن است:
 - + یک ژن **یوکاریوتی** که روی **DNA خطی** است، به وسیله آنزیم‌های **DNA پلی‌مراز** و **RNA پلی‌مراز** **پروکاریوتی** به ترتیب **هماندسازی** و **رونویسی** شود. هم‌پنین به وسیله ریبوزوم‌های **ساده** و **کوچک** ترجمه گردد!
 - + یک ژن **پروکاریوتی** که روی **DNA حلقوی** است، به وسیله آنزیم‌های **DNA پلی‌مراز** و **RNA پلی‌مراز** **یوکاریوتی** به ترتیب **هماندسازی** و **رونویسی** شود. هم‌پنین به وسیله ریبوزوم‌های **بزرگ** و **پیچیده** ترجمه گردد.

مهندسی پروتئین

- + روش‌های جدید امکان ایجاد تغییرات **دلخواه** در توالی آمینواسیدهای یک **پروتئین** را فراهم کرده است که می‌توان از آنها به منظور **تغییر** در ویژگی‌های یک پروتئین و **بهبود** عملکرد آن بهره‌مند شد.
- + انجام چنین تغییراتی روی پروتئین‌ها، که به آن **مهندسی پروتئین** گفته می‌شود، نیازمند **شناخت** کامل **ساختارهای چهارگانه** و **عملکرد** آن پروتئین است. این تغییرات می‌تواند **جزئی** یا **کلی** باشد.
- x تغییر **جزئی** شامل تغییر در رمز یک یا چند آمینواسید در مقایسه با پروتئین طبیعی است.
- x تغییرات عمده، **گسترده‌تر** است و می‌تواند شامل **موارد زیر** باشد.
- برداشتن **قسمتی** از **ژن** یک پروتئین
- **ترکیب** بخش‌هایی از **ژن‌های** مربوط به پروتئین‌های متفاوت
- + می‌دانیم **تغییر در ژن** مربوط به **پروتئین‌ها** و **تغییر** در **توالی آمینواسیدها** ممکن است باعث تغییر در شکل **فضایی** مولکول پروتئین و در نتیجه تغییر در **عمل** آن می‌شود. چنین پروتئین‌های تغییر یافته‌ای با اهداف مختلف، مثلاً **درمانی** و **تحقیقاتی** ساخته می‌شوند.
- + از تغییرات و اصلاحات مفید در فرایند مهندسی پروتئین‌ها می‌توان به **موارد زیر** اشاره کرد.
- x افزایش **پایداری** پروتئین در مقابل **گرما** و تغییر **pH**
- x افزایش حداکثری **سرعت** واکنش
- x **تمایل** آنزیم برای **اتصال** به پیش‌ماده

تغییر در ژن ⇔ تغییر در کدون‌های mRNA ⇔ تغییر در توالی آمینواسیدها ⇔ تغییر در شکل فضایی مولکول پروتئین ⇔ تغییر در عمل آن

افزایش پایداری پروتئین‌ها

- + امروزه با دستیابی به روش‌های مهندسی پروتئین می‌توان **پایداری** آنها را در مقابل **گرما** **افزایش** داد. این موضوع اهمیت زیادی دارد زیرا:
- x در دمای بالاتر **سرعت** واکنش **بیشتر** می‌شود.
- x خطر **آلودگی** میکروبی در محیط واکنش **کمتر** می‌شود.
- x همچنین، **نیازی** به **خنک** کردن محیط واکنش به خصوص در مورد واکنش‌های گرمازا **نیست**.
- + در ادامه مثال‌هایی از افزایش پایداری پروتئین‌ها، ارائه می‌دهیم.
- آمیلازها:** این آنزیم‌های **فاز سلولی** که از آنزیم‌های **پرکاربرد** در صنعت هستند مولکول‌های **نشاسته** را به قطعات کوچکتری **تجزیه** می‌کنند. آمیلازها در بخش‌های مختلف **صنعتی** مانند صنایع **غذایی**، **نساجی** و تولید **شوینده‌ها** کاربرد دارند. **بسیاری** از مراحل تولید صنعتی در **دماهای بالا** انجام می‌شود. بنابراین، استفاده از آمیلاز **پایدار** در برابر گرما **ضرورت** دارد. امروزه به کمک روش‌های زیست‌فناوری، **طراحی** و تولید آمیلازهای **مقاوم** به گرما ممکن شده است. استفاده از این مولکول‌ها باعث **(۱) کاهش زمان** واکنش، **(۲) صرفه‌جویی** اقتصادی و در نتیجه **(۳) افزایش بهره‌وری** صنعتی می‌شود. مشاهده شده است که در **طبیعت** نیز آمیلاز مقاوم به گرما وجود دارد. مثلاً باکتری‌های **گرم‌دوست** یا **ترموفیل‌ها** در **چشمه‌های** آب گرم دارای آمیلازهایی هستند که پایداری **بیشتری** در مقابل گرما دارند.

نکاتی در مورد آمیلازها

- (۱) آمیلازها مولکول‌های **نشاسته** (پلی‌ساکاریدها) را به قطعات **کوچکتری** (آلیگوساکاریدها نه مونوساکارید گلوکز!) **تجزیه** می‌کنند.
- (۲) بر اساس کتاب، آمیلازها **چهار** مدل هستند:
- + مدل پروکاریوتی که ژن آن در باکتری‌های **گرم‌دوست** وجود دارد و تا حدودی می‌توان از آنها در صنعت استفاده نمود.
- + مدل یوکاریوتی که ژن آن در **همه** سلول‌های زنده و هسته‌دار بدن انسان وجود دارد.
- x این آنزیم پس از سافته شدن توسط سلول‌های **غدد بزاقی** و **پانکراس** به صورت **فاز سلولی** فعالیت می‌کند.
- + مدل یوکاریوتی که با روش **مهندسی ژنتیک** تهیه شده و مانند اغلب آنزیم‌ها در مقابل گرما **پایدار نیست** و در صنعت هیچ گونه کاربردی **ندارد**!
- + مدل یوکاریوتی که با روش **مهندسی پروتئین** تهیه شده و نسبت به نوع طبیعی آن در برابر گرما **بسیار پایدار** بوده و در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد.
- x ژن این نوع آمیلاز، یوکاریوتی بوده ولی پس از تغییراتی به درون باکتری **انتقال** داده شده که پس از **رونویسی** و **ترجمه**، تولید می‌شود.

اینترفرون: به یاد دارید که **اینترفرون نوع ۱** از پروتئین‌های دستگاه ایمنی است. وقتی این پروتئین با روش مهندسی ژنتیک ساخته می‌شود، فعالیتی بسیار کمتر از اینترفرون طبیعی دارد. علت این کاهش فعالیت، تشکیل پیوندهای نادرست در ساختمان سوم در هنگام ساخته شدن آن در درون سلول باکتری به روش مهندسی ژنتیک است. پیوندهای نادرست باعث تغییر در شکل سه بعدی و نهایی مولکول و در نتیجه کاهش فعالیت آن می‌شوند. به کمک فرایند مهندسی پروتئین، و تغییر جزئی در رمز آمینواسید، توالی آمینواسیدهای اینترفرون را طوری تغییر می‌یابد که پس از تغییر در ژن مسئول تولید این پروتئین، یکی از کدون‌های mRNA تغییر یافته و در نهایت به جای یکی از آمینواسیدهای آن آمینواسید دیگری قرار می‌گیرد. این تغییر، (۱) فعالیت ضد ویروسی اینترفرون ساخته شده را به اندازه پروتئین طبیعی افزایش می‌دهد و (۲) همچنین آن را پایدارتر می‌کند. افزایش پایداری در نگهداری طولانی مدت پروتئین‌هایی که به عنوان دارو در خارج از بدن استفاده می‌شوند، اهمیت زیادی دارد.

نکاتی در مورد اینترفرون نوع ۱

- (۱) اینترفرون نوع ۱ علاوه بر سلول‌های آلوده به ویروس بر روی گیرنده‌های واقع بر روی غشای سلول‌های مجاور و سالم هم اثر می‌گذارد. + به صورت یک پیک شیمیایی اثر نموده و باعث ساقط شدن پروتئین‌های نابود کننده ویروس در آنها می‌شود.
 - (۲) اینترفرون‌های ساخته شده با روش مهندسی ژنتیک، فعالیتی بسیار کمتر از اینترفرون طبیعی دارند. + زیرا در هنگام ساخته شدن آن در سلول باکتری، در ساختمان سوم یا سه بعدی آن پیوندهای نادرست تشکیل می‌شود. x این پیوندها باعث تغییر در شکل سه بعدی و نهایی مولکول و کاهش فعالیت آن می‌شوند.
 - (۳) بر اساس کتاب سه مدل اینترفرون نوع ۱ وجود دارد: + مدل طبیعی که به وسیله سلول‌های انسانی آلوده به ویروس تولید می‌شود. + مدل تولید شده با مهندسی ژنتیک که هر چند ساختار اول آن با مدل طبیعی یکسان است ولی شکل سه بعدی آن متفاوت بوده و مناسب نیست. + مدل تولید شده با مهندسی پروتئین که پس از تغییراتی در یک بفت نوکلئوتید در ژن مسئول تولید آن ساخته می‌شود. x در نتیجه تغییر در این ژن و تغییر در یکی از کدون‌های mRNA آن، یک آمینواسید آن متفاوت از دو نوع دیگر خواهد شد. - در نتیجه شکل سه بعدی این پروتئین به گونه‌ای تغییر یافته تا به راحتی به گیرنده خود در سطح سلول‌های آلوده به ویروس یا سالم متصل شود.
- پلاسمین:** می‌دانیم تشکیل لخته، یک فرایند زیستی مهم است که از ادامه خونریزی جلوگیری می‌کند، اما تشکیل لخته در سرخرگ‌های شش، مغز و مایچه قلب به ترتیب منجر به بسته شدن رگ‌های شش، سکته مغزی و قلبی می‌شود که بسیار خطرناک است و می‌تواند باعث مرگ شود. رشته‌های فیبرین موجود در لخته‌ها به طور طبیعی در بدن یعنی درون پلاسمای خون توسط آنزیم پلاسمین تجزیه می‌شوند. پلاسمین کاربرد درمانی دارد، اما مدت اثر آن در پلاسمای خیلی کوتاه است. پس از تغییر در ژن مسئول تولید این پروتئین، یکی از کدون‌های mRNA تغییر یافته و در نهایت جانشینی یک آمینواسید پلاسمین با آمینواسید دیگری در توالی، باعث می‌شود که مدت زمان فعالیت پلاسمایی و اثرات درمانی آن در درون خون بیشتر شود.

نکاتی در مورد پلاسمین

- (۱) آنزیم پلاسمین توسط کبد ساخته شده و لخته‌های تشکیل شده در بدن از جمله شش‌ها، قلب و مغز را با تجزیه نمودن رشته‌های فیبرین آنها از بین می‌برد. + این لخته‌ها به ترتیب سبب بروز عارضه آمبولی، سکته قلبی و سکته مغزی می‌شوند.
- (۲) پلاسمین کاربرد درمانی دارد اما حتی در شرایط طبیعی بدن انسان نیز مدت اثر آن در پلاسمای خیلی کوتاه است.
- (۳) بر اساس کتاب، سه مدل آنزیم پلاسمین وجود دارد: + مدل طبیعی که به وسیله سلول‌های کبد ساخته شده و طول عمر پائینی دارد. + مدل مهندسی شده با مهندسی ژنتیک که همانند مدل طبیعی آن طول عمر پائینی دارد! + مدل مهندسی شده با مهندسی پروتئین که پس از تغییراتی در یک بفت نوکلئوتید در ژن مسئول تولید آن ساخته می‌شود. x در نتیجه تغییر در این ژن و تغییر در یکی از کدون‌های mRNA آن، یک آمینواسید آن متفاوت از دو نوع دیگر خواهد شد. - در نتیجه شکل سه بعدی این پروتئین به گونه‌ای تغییر یافته تا زمان فعالیت پلاسمایی بیشتر و مصرف درمانی داشته باشد.

مهندسی بافت

- + از دست رفتن بافت به دلیل آسیب یا بیماری، زندگی را دشوار و هزینه بالای اقتصادی و اجتماعی را بر فرد بیمار و خانواده او تحمیل می‌کند.
- + فرض می‌کنیم که به علت سوختگی وسیع نیاز به پیوند پوست وجود داشته باشد.
- x چنانچه به دلیل واکنش‌های ایمنی و پس زدن بافتی! اهداکننده پوست مناسب وجود نداشته باشد.
- x یا به علت وسعت سوختگی، برداشت پوست از بدن بیمار ممکن نباشد،

+ بهترین راه، کشت بافت و پیوند پوست از خود شخص آسیب دیده است.

+ ثابت شده است که در دافلی ترین لایه اپیدرم پوست، یاخته‌هایی وجود دارد که توانایی تکثیر زیاد و تمایز به انواع یاخته‌های پوست (فقط!) را دارند.

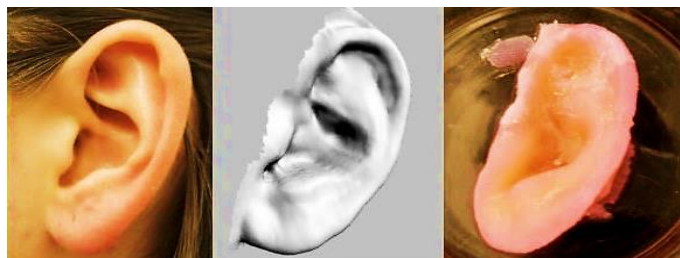
+ امروزه در مهندسی بافت از این یاخته‌ها، به طور موفقیت‌آمیزی برای تولید اندام از دست رفته (پوست) استفاده می‌شود.

+ متخصصان مهندسی بافت، در زمینه تولید و پیوند اعضا نیز فعالیت می‌کنند.

x برای نمونه، جراحان بازسازی کننده چهره می‌توانند به کمک روش‌های مهندسی از بافت غضروف برای بازسازی لاله گوش و بینی استفاده کنند.

- در این روش، یاخته‌های غضروفی را در محیط کشت روی داربست مناسب تکثیر می‌کنند.

* در نهایت غضروف جدید را برای بازسازی اندام آسیب دیده تولید می‌کنند (شکل ۷).



شکل ۷- مهندسی بافت غضروف گوش انسان

+ عکس گوش طبیعی (چپ)

+ تصویر رقمی یا دیجیتالی (وسط)

+ غضروف گوش ساخته شده با روش مهندسی بافت بعد از دو هفته (راست)

یاخته‌های بنیادی و مهندسی بافت

+ یاخته‌های تمایز یافته‌ای مانند یاخته‌های ماهیچه‌ای در محیط کشت به مقدار کم تکثیر می‌شوند و یا اصلاً تکثیر نمی‌شوند.

x این سلول‌ها در مرحله G₀ از چرخه سلولی قرار داشته و برای تکثیر و مهندسی بافت به هیچ وجه مناسب نیستند.

x نورون‌های دستگاه عصبی هم در درون بدن به ندرت تقسیم می‌شوند و یا اصلاً تکثیر نمی‌شوند.

+ به همین دلیل، در چنین مواردی از منابع یاخته‌ای بنیادی که سریع تکثیر می‌شوند و چرخه سلولی آنها زیاد طول نمی‌کشد استفاده می‌کنند.

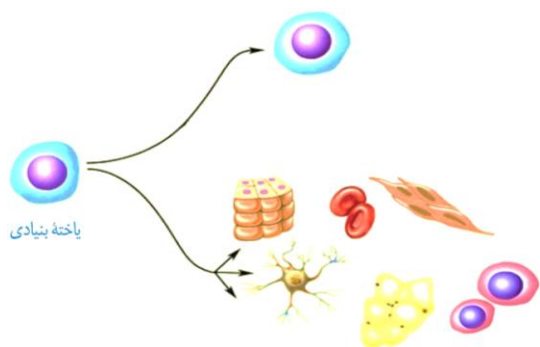
+ یاخته‌های بنیادی می‌توانند تکثیر و به انواع متفاوت یاخته تبدیل شوند. (شکل ۸)

x یاخته‌های بنیادی جنینی: یاخته‌های بنیادی جنینی، همان یاخته‌های توده درونی بلاستوسیت هستند.

- این سلول‌ها قابلیت تولید همه انواع سلول‌های بدن انسان و حتی تولید یک انسان کامل را دارند.

x یاخته‌های بنیادی بالغ: یاخته‌های بنیادی بالغ در بافت‌های بالغ یافت می‌شوند.

- این سلول‌ها فقط قابلیت تولید بعضی از سلول‌های بدن انسان را دارند.



شکل ۸- یاخته‌های بنیادی توانایی تکثیر و به وجود آوردن یاخته‌های مشابه خود (تقسیم سلولی) و نیز توانایی

تبدیل شدن به سایر یاخته‌ها (تمایز سلولی) را دارند.

+ از سلول‌های بنیادی، علاوه بر سلول‌های بنیادی جدید، سلول‌ها دیگری مانند سلول‌های پوششی، عصبی،

چربی، ماهیچه صاف، گلبول‌های قرمز و سفید به وجود می‌آیند.

+ تفاوت سلول‌های حاصل از یک سلول بنیادی در ژن‌های روشن آنهاست نه در تعداد و نوع ژن‌های آنها!

یاخته‌های بنیادی بالغ: در بافت‌های و اندام‌های مختلف بدن یک فرد بالغ یاخته‌های بنیادی وجود دارند که در محیط کشت تکثیر می‌شوند.

+ به عنوان مثال یاخته‌های بنیادی کبد می‌توانند تکثیر شوند و (۱) به یاخته کبدی یا (۲) یاخته مجرای صفراوی تمایز پیدا کنند.

+ با دو نوع از یاخته‌های بنیادی مغز استخوان قبلاً آشنا شده اید. آیا آنها را به یاد دارید؟ بله سلول‌های لنفوئیدی و میلوئیدی

+ انواع دیگری از یاخته‌های بنیادی در مغز استخوان وجود دارند که می‌توانند به رگ‌های خونی، ماهیچه اسکلتی و ماهیچه قلبی تمایز پیدا کنند.

x این یاخته‌ها از فرد بالغ برداشته و کشت داده می‌شوند (شکل ۹).

انواع سلول‌های بنیادی بالغ در مغز استخوان

(۱) در مغز استخوان ریش از سه نوع سلول بنیادی وجود دارد:

+ سلول بنیادی اولیه که تقسیم شده و سلول‌های بنیادی میلوئیدی و لنفوئیدی را می‌سازد.

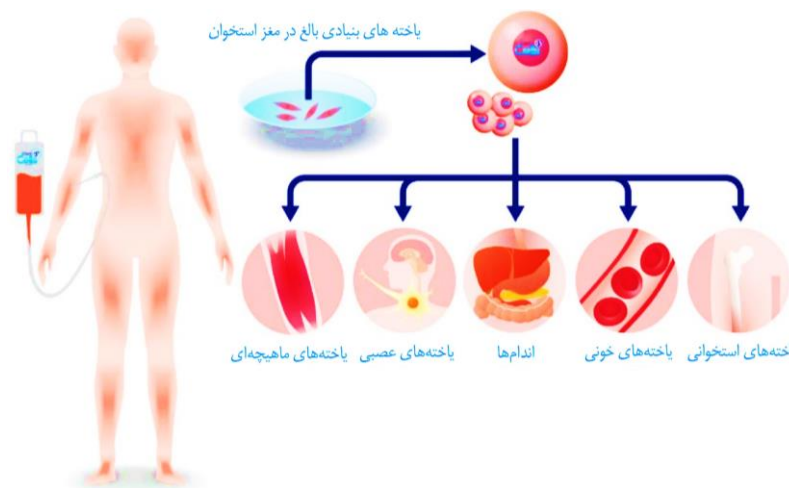
+ سلول بنیادی لنفوئیدی که تقسیم شده و از تمایز آنها فقط لنفوسیت‌های B، لنفوسیت‌های T و لنفوسیت‌های کشنده طبیعی به وجود می‌آیند.

- از لنفوسیت‌های B نیز پلاسموسیت‌ها و سلول‌های B ناظره و از لنفوسیت‌های T نیز سلول‌های T کشنده، T کمک کننده و T ناظره تمایز می‌یابند.

+ سلول بنیادی میلوئیدی که بقیه سلول‌های خون یعنی گلبول‌های قرمز، مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و بازوفیل‌ها و ماکارایوسیت‌های را می‌سازند.

- پلاکت‌ها تکه‌های حاوی غشاء و سیتوپلاسم از ماکارایوسیت‌ها هستند که در مغز استخوان از آنها کنده شده و وارد خون می‌شوند!

+ سلول بنیادی دیگر که سلول‌های استخوانی، گلبول‌ها، عصبی و ماهیچه‌ای و اندام‌هایی مانند کبد، معده، لوزالمعده، روده باریک و بزرگ تمایز پیدا می‌کنند.

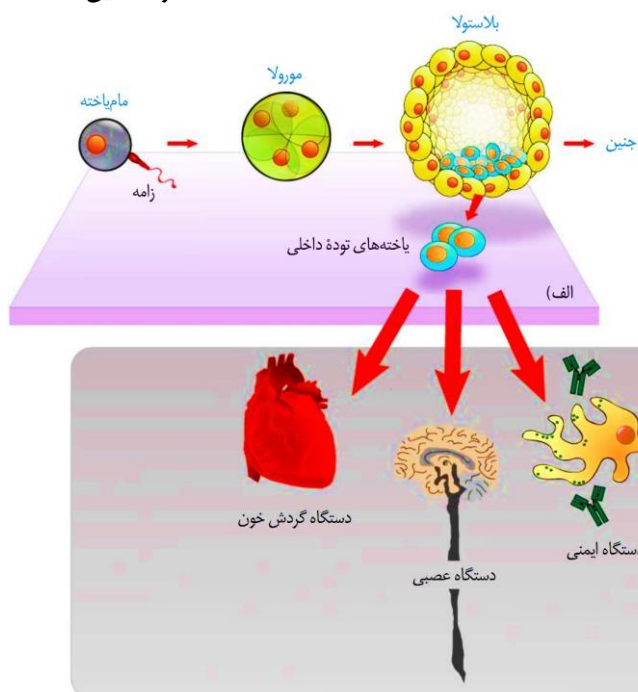


شکل ۹- باخته‌های بنیادی مغز استخوان به انواع مختلف باخته‌ها و بافت‌ها و حتی اندام‌ها! تمایز پیدا می‌کنند.

+ سلول‌ها: شامل سلول‌های استخوانی، کلیه‌ها، عصبی و ماهیچه‌ای

+ اندام‌ها: شامل کبد، معده، لوزالمعده، روده باریک و روده بزرگ

یاخته‌های بنیادی جنینی: چنین باخته‌هایی نه تنها قادر به تشکیل همه بافت‌های بدن جنین هستند، بلکه اگر در مراحل اولیه جنینی یعنی مراحل مورولا و بلاستولا یا بلاستوسیست جداسازی شوند، می‌توانند یک جنین کامل شامل همه دستگاه‌های بدن از جمله دستگاه ایمنی، عصبی و گردش خون را تشکیل دهند.



+ این باخته‌ها بعد از جداسازی کشت داده و برای تشکیل

بسیاری از انواع باخته‌ها تحریک می‌شوند (شکل ۱۰).

+ اما تمایز چنین باخته‌هایی هنوز نمی‌تواند به گونه‌ای تنظیم

شود که بتوانند همه انواع باخته‌هایی را که در بدن جنین

تولید می‌کنند در شرایط آزمایشگاهی نیز به وجود بیاورند.

شکل ۱۰- همه این اتفاقات در آزمایشگاه انجام نمی‌شود!

+ الف) باخته‌های بنیادی مورولا به همه انواع باخته‌های جنینی و خارج

جنینی (جفت و پرده‌ها) متمایز می‌شوند.

+ ب) باخته‌های بنیادی توده باخته‌ای درونی که خود از مورولا به وجود آمده و

به انواع باخته‌های بدن جنین متمایز می‌شوند.

+ ج) سلول‌های بنیادی تروفوبلاست که خود از مورولا به وجود آمده و فقط به

کورین و بخشی از جفت (نه همه آن!) تمایز می‌یابند.

نکاتی در مورد سلول‌های بنیادی جنینی

۱) سلول‌های بنیادی جنینی بر خلاف سلول‌های بنیادی بالغ که فقط توانایی تولید سلول‌های خاصی داشتند، توانایی تولید همه بافت‌های بدن را دارند.

+ سلول‌های بنیادی جنینی می‌توانند انواع سلول‌ها، بافت‌ها، اندام‌ها، دستگاه‌ها و حتی بدن یک فرد کامل را بسازند.

۲) سلول‌های بنیادی جنینی در حالت طبیعی و در شرایط آزمایشگاه سرنوشت‌های متفاوتی دارند.

+ در حالت طبیعی

x قادر به تشکیل همه بافت‌های بدن جنین هستند.

x اگر در مراحل مورولا و بلاستولا جداسازی شوند، می‌توانند یک جنین کامل شامل همه دستگاه‌های بدن را تشکیل دهند.

- سلول‌های بنیادی مورولا (مرحله ۱۳-۱۶ سلولی) به همه انواع سلول‌های جنینی (توده داخلی) و خارج جنینی (جفت و پرده‌ها) متمایز می‌شوند.

- سلول‌های بنیادی بلاستولا یا بلاستوسیست (مرحله ۱۴-۱۰۰ سلولی) که خود دو نوع هستند:

• سلول‌های بنیادی توده داخلی بلاستولا (دارای ۱۴-۱۵ سلول) که خود از مورولا به وجود آمده، به انواع سلول‌های بدن جنین متمایز می‌شوند.

• لازم به ذکر است حتی یکی از این سلول‌ها می‌تواند یک جنین کامل دارای جفت را هم بسازد!

• سلول‌های بنیادی تروفوبلاست که خود از مورولا به وجود آمده و فقط به کورین و بخشی از جفت (نه همه آن!) تمایز می‌یابند.

+ در شرایط آزمایشگاه

x برای تشکیل بسیاری از انواع سلول‌ها تحریک می‌شوند.

x تمایز این سلول‌ها هنوز نمی‌تواند به گونه‌ای تنظیم شود که بتوانند همه انواع سلول‌ها را در شرایط آزمایشگاهی به وجود بیاورند.

همان طور که در گفتار قبلی دیدید **زیست فناوری** (شامل مهندسی ژنتیک، مهندسی پروتئین و مهندسی بافت) در زمینه‌های متفاوتی کاربرد دارد. اکنون می‌خواهیم بدانیم چگونه می‌توان از این شاخه علمی برای **بهبود کیفیت زندگی انسان و حفظ محیط زیست** بهره برد.

کاربرد زیست فناوری در کشاورزی

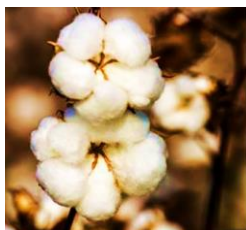
- + تحول در **کشاورزی نوین** توانست **افزایش** چشمگیری در محصولات کشاورزی مانند گندم، برنج و ذرت ایجاد کند.
- x استفاده از **کودها و سموم شیمیایی**، **کشت انواع محصول**، **استفاده از ماشین‌ها** در کشاورزی و **افزایش سطح زیر کشت** از نتایج این تحول بود.
- اما در کنار آن شاهد **عواقب زیانباری** همچون **آلودگی محیط زیست**، **کاهش تنوع ژنی** و **تخریب جنگل‌ها و مراتع** نیز بوده‌ایم.
- **آلودگی محیط زیست** به دلیل **استفاده از کودها و سموم شیمیایی** اتفاق می‌افتد.
- **کاهش تنوع ژنی** به دلیل **انتخاب و کشت فقط بعضی از ارقام خاص** رخ می‌دهد.
- **تخریب جنگل‌ها و مراتع** به دلیل **تقريب آنها برای ایجاد مزارع جدید** روی می‌دهد.
- + امروزه **می‌توان** برای افزایش محصولات به **هر روشی** متوسل شد. بنابراین، **شاید** فناوری‌های جدید زیستی بتوانند **تا حدودی** مشکلات بشر را در این زمینه حل کنند.

کاربرد اول: تولید گیاهان مقاوم در برابر بعضی آفت‌ها

- + **یکی** از کاربردهای زیست فناوری، **تولید گیاهان مقاوم در برابر بعضی آفت‌ها** هستند.
- + این روش توانسته است مصرف آفت‌کش‌ها را **کاهش** دهد.
- x به عنوان مثال **برخی** از **باکتری‌های خاکی**، مانند *Bacillus thuringiensis* پروتئین‌هایی به نام **Bt Toxins** تولید می‌کنند که **لارو حشرات مضر** برای گیاهان زراعی را می‌کشند.
- x این باکتری‌ها در **مرحله‌ای** از رشد خود نوعی پروتئین **سمی** می‌سازند که ابتدا به صورت مولکولی **غیرفعال** است.
- x این مولکول در بدن **لارو** حشره **فعال** شده، حشره را از بین می‌برد.
- x چرا این سم **می‌تواند** خود باکتری را از بین ببرد؟ چون این سم درون باکتری به صورت **پیش‌سم غیرفعال** است.
- + **پیش‌سم غیرفعال**، تحت تأثیر **آنزیم‌های گوارشی** موجود در لوله گوارش **لارو** حشره **شکسته** و **فعال** می‌شود.
- x سم فعال شده باعث **تخریب یا خسته‌های لوله گوارش** و سرانجام مرگ **لارو** حشره می‌شود.
- یادآوری مهم: آفت، **بانوری** است که از محصولات کشاورزی به عنوان **غذا** استفاده می‌کند!
- نکته مهم:** استفاده از مهندسی ژنتیک، برای تولید گیاهان مقاوم در برابر بعضی آفت‌ها، **نمی‌تواند** مصرف آفت‌کش‌ها را به صفر برساند!
- + برای تولید گیاه مقاوم به آفت، مراحل زیر را انجام می‌دهند:

 - (۱) ابتدا **ژن** مربوط به این سم به وسیله **آنزیم برش‌دهنده** از **ژنوم باکتری جداسازی** می‌شود.
 - (۲) پس از استفاده از **آنزیم لیگاز** و ایجاد **پلازمید نو ترکیب**، **همسانه‌سازی** در درون یک باکتری دیگر انجام می‌گیرد.
 - (۳) از طریق یک ناقل همسانه‌سازی مانند **پلازمید Ti** و یا از طریق وسیله‌ای به نام **تفنگ ژنی** به گیاه مورد نظر **انتقال** داده می‌شود.
 - (۴) ممکن است برخی از سلول‌های گیاهی ژن مورد نظر را دریافت کنند که می‌بایست آنها را **تشخیص** داده و از بقیه سلول‌ها **جد** نمود!
 - (۵) ژن مورد نظر پس از ورود به سلول گیاهی با شکسته شدن و تشکیل پیوندهای **فسفودی‌استر**! به ژنوم آن **متصل** شده تا بتواند رونویسی و ترجمه شود.

- + تاکنون با این روش **چند نوع** گیاه مقاوم مثل **ذرت**، **پنبه** و **سویا** تولید شده‌اند.
- x همان طور که در شکل ۱۱ می‌بینید نوزاد کرمی شکل (لارو) به درون **تقمدان** یا غوزه **نارس** پنبه نفوذ می‌کند.
- بنابراین برای از بین بردن این آفت، **سم‌پاشی‌های متعدد** لازم است، زیرا به دلیل **ورود لارو** به درون غوزه، آفت در معرض سم قرار **نمی‌گیرد**.
- از سوی دیگر، **استفاده زیاد** سم برای محیط زیست **مضر** است.



شکل ۱۱- آلوده شدن غوزه گیاه پنبه به آفت را نشان می‌دهد.

گیاه سالم (سمت چپ)،

ورود آفت به درون غوزه (وسط)

و گیاه آلوده سمت (راست)

x امروزه با کمک فناوری زیستی و تولید پنبه‌های مقاوم، نیاز به سم‌پاشی مزارع پنبه تا حدود زیادی کاهش پیدا کرده است.
+ حشره در اثر خوردن گیاه مقاوم شده از بین می‌رود و فرصت ورود به درون غوزه را از دست می‌دهد. بنابراین، نیاز به سم‌پاشی مزرعه کاهش می‌یابد.

نکاتی در مورد سم مورد آفت‌کش حاصل از زیست‌فناوری

- (۱) این مولکول در بدن لارو حشره تحت اثر پروتئازهای معده فعال شده، حشره را از بین می‌برد.
- (۲) سم فعال شده باعث تفریب سلول‌های لوله گوارش و سرانجام مرگ حشره می‌شود.
- (۳) این سم نمی‌تواند خود باکتری را از بین ببرد، چون درون باکتری به صورت پیش‌سم غیر فعال است.
- (۴) پیش‌سم غیر فعال، تحت تأثیر آنزیم‌های گوارشی موجود در لوله گوارش لارو حشره با شکسته شدن پیوند پپتیدی فعال می‌شود.
- (۵) بنابراین می‌توان گفت، از لحاظ مولکولی پیش‌سم از سم فعال، بزرگ‌تر است.
- (۶) به عبارت دیگر پیش‌سم تعداد پیوندهای پپتیدی بیشتری نسبت به سم دارد.
- (۷) بدیهی است در ژنوم باکتری یعنی روی DNA ملقوی آن، ژن پیش‌سم یافت می‌شود نه ژن سم!

کاربردهای مختلف دیگر زیست‌فناوری در کشاورزی

- + زیست‌فناوری علاوه بر تولید گیاهان مقاوم در برابر آفت‌ها، کاربردهای زیادی در زمینه کشاورزی دارد.
- x موارد زیر نیز با انجام روش‌های مهندسی ژنتیک ممکن شده‌اند و از دیگر دستاوردهای این فناوری است.
- اصلاح بذر برای تولید گیاهان مطلوب که بازدهی بهتر و بیشتری نسبت به گیاهان معمولی دارند.
 - تولید گیاهان مقاوم به خشکی که می‌توان آنها را در مناطق کم‌آب و بیابانی کاشت.
 - تولید گیاهان مقاوم به شوری که می‌توان آنها را در مناطق کم‌آب و بیابانی کاشت.
 - تنظیم سرعت رسیدن میوه‌ها با تأثیر هورمون اتیلن که می‌توان همه آنها را به طور هم‌زمان برداشت نمود.
 - افزایش ارزش غذایی محصولات که باعث اضافه نمودن ویتامین‌ها و مواد معدنی مورد نیاز انسان به برخی محصولات زراعی می‌شود.
 - تولید گیاهان زراعی مقاوم به علف‌کش‌ها که تأثیرات بسیار مطلوبی دارد، از جمله
 - ☼ علف‌های هرز را می‌توان با استفاده از علف‌کش‌هایی که به راحتی در طبیعت تجزیه می‌شوند، بدون آسیب به گیاه اصلی از بین برد.
 - ☼ در صورت از بین بردن علف‌های هرز با این روش، به شخم‌زدن زمین نیاز نبوده و خاک‌های سطحی نیز کمتر دستخوش فرسایش می‌شوند.

کاربرد زیست‌فناوری در پزشکی

۱- تولید دارو: فناوری دناي نو ترکیب به علت تولید داروهای پروتئینی (فقط) مطمئن و مؤثر، جایگاه ویژه‌ای در صنعت داروسازی دارد.

+ این داروها، برخلاف فراورده‌های مشابهی که از منابع غیر انسانی تهیه می‌شوند، پاسخ‌های ایمنی ایجاد نمی‌کنند.

+ هورمون انسولین یکی از داروهایی است که توسط این فناوری تولید می‌شود.

x دیابت نوع یک را می‌توان به وسیله دریافت انسولین کنترل کرد.

+ به نظر شما چگونه می‌توان نیاز افراد نیازمند به این ماده را تأمین کرد؟ به دو روش زیر:

x استفاده از انسولین حیوانی: یکی از روش‌های تهیه انسولین جداسازی و خالص کردن آن از لوزالمعده جانورانی مثل گاو است.

x استفاده از انسولین انسانی: روش دیگر، استفاده از مهندسی ژنتیک برای تولید انسولین انسانی در سلول باکتری است.

+ می‌دانیم که باکتری در صورت داشتن ژن انسولین انسانی می‌تواند آن را بسازد.

+ مولکول انسولین فعال، از دو زنجیره کوتاه پلی‌پپتیدی به نام‌های A و B تشکیل شده است که به یکدیگر متصل هستند.

x این دو زنجیره از طریق پیوندهای دی‌سولفیدی که جز پیوندهای کووالانسی محسوب می‌شوند، به هم متصل می‌شوند.

+ در پستانداران از جمله انسان، هورمون انسولین به صورت یک مولکول پیش‌هورمون ساخته می‌شود.

x سافتار نهایی پروتئین پیش‌انسولین همان سافتار سوم است!

+ همان طور که در شکل ۱۲ می‌بینید، پیش‌هورمون به صورت یک زنجیره پلی‌پپتیدی است و با جدا شدن بخشی از توالی به نام زنجیره C به

هورمون فعال تبدیل می‌شود.

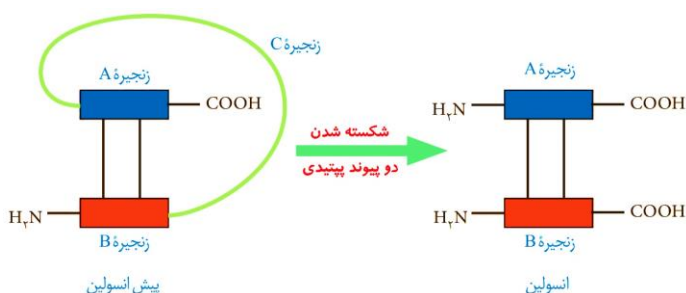
x زنجیره C از طرف آمینی با زنجیره A و از طرف کربوکسیل با زنجیره

B در تماس است،

x انسولین بر روی ژنوم انسان دارای یک جایگاه ژنی و دو عدد

ژن است.

شکل ۱۲. جدا شدن زنجیره C و تبدیل پیش‌انسولین به انسولین



x سموم خالص! غیرفعال شده را به شخص تزریق می‌کردند. دستگاه ایمنی شخص نیز در مقابل این آنتی‌ژن‌ها، پادتن و سلول B خاطره می‌سازد.

+ **ایراد بزرگ** واکسن‌های قدیمی: چنانچه در مراحل تولید واکسن **خطایی** رخ دهد، احتمال بروز بیماری وجود دارد.

(ن) **واکسن‌های جدید:** با واکسن‌های **نو ترکیب** که پس از ظهور مهندسی ژنتیک تهیه شده‌اند.

+ ژن مربوط به **آنتی‌ژن سطحی** عامل بیماری‌زا را به یک باکتری یا ویروس غیر بیماری‌زا **منتقل** می‌کنند.

x **مراحل ساخت** واکسن نو ترکیب به صورت زیر است:

- **جداسازی** ژن مسئول ساخت آنتی‌ژن **سطحی** از عامل بیماری‌زا

- **تکثیر** نمودن ژن مورد نظر به کمک یک **ناقل** همسانه‌سازی و **باکتری**

- **استخراج** نمودن ژن مورد نظر از **باکتری** تکثیر کننده ژن

- **انتقال** دادن ژن از طریق **ترانسفورماسیون** یا روش‌های دیگر به درون یک باکتری یا ویروس **غیر بیماری‌زا**.

- **استفاده** نمودن از ویروس یا باکتری غیر بیماری‌زای **نو ترکیب** به عنوان واکسن نو ترکیب

+ **مزیت بزرگ** واکسن‌های نو ترکیب: چون در ساخت آنها از باکتری یا ویروس **غیر بیماری‌زا** استفاده می‌شود، بنابراین هیچگاه سبب ایجاد بیماری **نمی‌شوند**.

۳-ژن درمانی: آیا می‌توان افرادی را که با بیماری **ارشی** متولد می‌شوند **درمان** کرد؟ پاسخ به این سؤال **مشکل** است ولی در **مواردی** جواب مثبت است.

+ یکی از روش‌های جدید برای درمان **برخی** بیماری‌های ژنتیکی، **ژن درمانی** است که خود **مجموعه‌ای** از روش‌هاست.

+ ژن درمانی یعنی قرار دادن نسخه **سالم** یک ژن در تعدادی از یاخته‌های فردی که دارای نسخه‌ای **ناقص** از همان ژن است.

x بدیهی است در این روش با نسخه **ناقص** ژن کاری **ندارند** و ژن سالم ممکن است در همان جایگاه ژنی مورد نظر قرار **نگیرد**.

+ در این روش **یاخته‌هایی** را از بدن بیمار **خارج** و ژن سالم را با کمک **ناقل**‌هایی مانند ویروس‌ها وارد آنها می‌کنند.

+ سپس یاخته تغییر یافته را به بدن بیمار **باز می‌گردانند**. بدیهی است پس از انتقال ژن این افراد هم چنان **تراژن** متسوسب **نمی‌شوند**!

+ **اولین** ژن درمانی موفقیت آمیز در سال ۱۹۹۰ برای یک دختر بچه ۴ ساله، دارای **نوعی نقص ژنی**، انجام شد.

+ **این ژن** جهش یافته **نمی‌توانست** آنزیم **آدنوزین دآمیناز** (ADA) **Adenosine deaminase** به عنوان **یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی** را بسازد.

x با توجه به این که **فقط** یک جایگاه ژنی برای این آنزیم وجود دارد، بنابراین آنزیم **فقط** ساختار اول، دوم و سوم داشته و **فاقد** ساختار چهارم است.

x این عارضه، نوعی بیماری اتوزومی مغلوب به نام **نقص آدنوزین دآمیناز** یا **Adenosine deaminase Deficiency (ADD)** نام دارد.

- بنابراین **فقط** وجود **یک نسخه** از ژن کافی است تا در بدن شخص بیمار به **مقدار کافی** از این آنزیم ساخته شود!

+ روش کار در ژن درمانی برای درمان آن به صورت زیر است:

x **ابتدا** لنفوسیت‌ها را از خون بیمار **جداسازی** کردند و در خارج از بدن **کشت** دادند.

x سپس **نسخه‌ای** از ژن **کارآمد** را به وسیله **ناقل** ویروسی به لنفوسیت‌ها **منتقل** و پس از **نو ترکیب** کردن در نهایت آنها را وارد بدن بیمار کردند.

x ژن سالم با کارآمد به درون **هسته** سلول‌های میزبان **وارد** شده و با **شکسته شدن** و **تشکیل** پیوند فسفودی‌استر به DNA میزبان **می‌چسبند**!

+ **اگرچه** این یاخته‌ها توانستند آنزیم مورد نیاز بدن را بسازند ولی چون قدرت بقای زیادی ندارند، لازم بود بیمار به طور **متناوب** لنفوسیت‌های

مهندسی شده یا **نو ترکیب** را دریافت کند (شکل ۱۴).

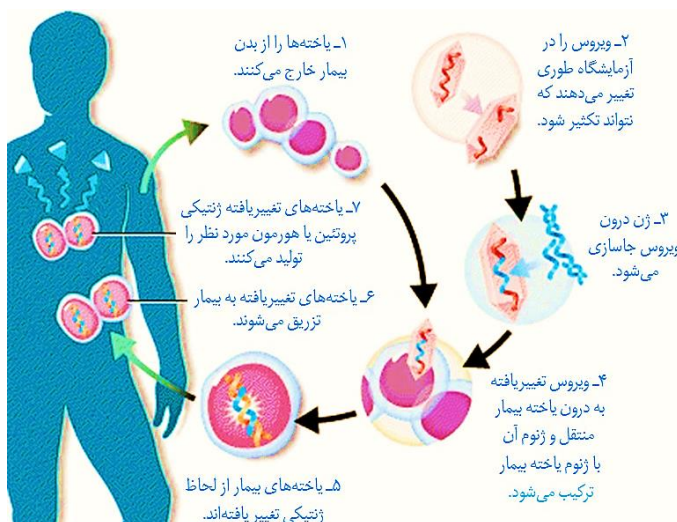
+ برای درمان این افراد می‌توان از روش‌هایی مثل **پیوند مغز استخوان** نو ترکیب یا مهندسی شده و یا **تزریق آنزیم** فوق هم استفاده کرد.

x به عبارت دیگر می‌توان گفت، در مجموع **سه** روش برای درمان این افراد وجود دارد:

- **تزریق آنزیم** مورد نظر

- **پیوند سلول‌های مغز استخوان** نو ترکیب

- **استفاده** از روش **ژن درمانی**



شکل ۱۴. مراحل ژن درمانی

+ روش ژن درمانی را **تقریباً** می‌توان برای درمان **همه** بیماری‌های ژنتیکی **مغلوب** که در آنها فقدان یک پروتئین که نقش **آنزیمی** یا **هورمونی** دارد به کار برد.

+ لازم به ذکر است در این نوع درمان همه سلول‌های شخص بیمار مورد ژن درمانی قرار **نمی‌گیرند** و فقط تعدادی از آنها که ژن مورد نظر می‌بایست در آنها بیان شود تحت درمان قرار می‌گیرند!

+ امروزه با استفاده از تکنیک ویرایش ژن با روش **CRISPR/Cas9** می‌توان در ژن درمانی هم استفاده نمود.

۴- تشخیص بیماری: برای درمان موفقیت آمیز یک بیماری، تشخیص اولیه و شناخت دقیق آن بسیار مهم است.

- + علاوه بر روش هایی مثل آزمایش خون و ادرار، روش های دیگری مثل فناوری های مبتنی بر **دنا** در تشخیص بیماری نقش مهمی دارند.
- + تشخیص بیماری وقتی که علائم آن در بدن **ظاهر** شده باشد به دلیل پیشرفت بیماری نسبتاً **ساده** است.
- x اما وقتی که هنوز علائم ظاهر نشده اند و میزان یا تعداد عامل بیماری را در بدن **پایین** است تشخیص بیماری **مشکل** است.
- + امروزه با کمک روش های زیست فناوری و شناسایی نوکلئیک اسید عامل بیماری را یعنی **DNA** یا **RNA** می توان به وجود آن در بدن پی برد.
- + همان طور که می دانید **ایدز** بیماری خطرناکی است و هنوز درمان قطعی برای آن وجود ندارد.
- + فرد مبتلا به ایدز توانایی دفاع در مقابل عوامل بیماری را از دست می دهد.
- + برای تشخیص ایدز در مراحل اولیه، **دنا**ی موجود در خون فرد مشکوک را استخراج می کنند.
- + دنا ی استخراج شده شامل دنا ی یاخته های بدن **خود** فرد و احتمالاً **دنا**ی ساخته شده از رنا ی **ویروس** است.
- x نکاتی در مورد ویروس ایدز:

- ماده وراثتی ویروس ایدز از جنس **RNA** است.

- بعد از ورود ماده وراثتی به سلول میزبان، ابتدا از روی این **RNA** با استفاده از آنزیم رونوشت بردار معکوس، مولکول **DNA** ساخته می شود.

- پس از اتصال **RNA** به **DNA** میزبان، رونویسی و ترجمه انجام شده و ویروس های جدید به تعداد بسیار زیاد ساخته می شوند.

+ سپس با استفاده از روش های زیست فناوری دنا ی ویروس تشخیص داده می شود.

+ تشخیص **زود هنگام** آلودگی با ویروس ایدز اهمیت زیادی دارد

x زیرا باعث می شود که بدون **اتلاف** وقت اقدامات **درمانی** و **پیشگیری** لازم برای جلوگیری از انتقال ویروس به **سایر افراد** صورت گیرد.

۵- کاربردهای دیگر: زیست فناوری در موارد دیگر نیز کاربرد دارد.

+ تشخیص ژن های **جهش یافته** در بیماران **مستعد** به سرطان

+ در مسائل پزشکی قانونی

+ در مسائل تحقیقاتی همچون مطالعه در مورد **دنا ی فسیل ها**

اهمیت تولید جانوران تراژنی در زیست فناوری

+ جانداران تراژن دارای ژن از **گونه دیگر** هستند! **دلایل متعددی** برای طراحی و تولید این جانوران وجود دارد که می توان به **چند** مورد اشاره کرد:

- مطالعه **عملکرد** ژن های خاص در بدن مثل ژن های **عوامل رشد** و نقش آنها در

رشد بهتر **دام ها**، زیرا هر **په دام بزرگ تر** باشد، گوشت و شیر بیشتری تولید می کند!

- کاربرد آنها به عنوان **مدلی** برای مطالعه بیماری های انسانی از قبیل انواع **سرطان**،

آلزایمر و بیماری ام اس

- تولید پروتئین های انسانی یا داروهای خاص در بدن آنها، به عنوان مثال **دام های**

تراژنی می توانند شیر غنی از **نوعی پروتئین انسانی** به نام **لاکتوفیرین (Lactoferrin)**

تولید کنند که برای انسان نسبت به شیر طبیعی دام ها **مناسب تر** است (شکل ۱۵).

نکاتی در مورد لاکتوفیرین

(۱) یکی از پروتئین های سیستم ایمنی بوده و توسط برنی از گلبول های سفید تولید می شود.

(۲) این ماده از خانواده ترانسفرین ها است و در اغلب مایعات ترشح شده مانند شیر یافت می شود.

(۳) یکی از مهمترین خاصیت های لاکتوفیرین جذب و انتقال یون های آهن است.

(۴) لاکتوفیرین با جذب آهن، آزاد محیط را عاری از این عنصر می کند.

(۵) پس میکروب هایی که برای ادامه حیات به این عنصر حیاتی نیاز دارند از آن محروم می کنند.

(۶) بنابراین با مهار رشد باکتری های مضر و جلوگیری از گسترش میکروب ها، عفونت را مهار می کند.

شکل ۱۵- تولید پروتئین های انسانی با استفاده از دام های تراژنی

ابتدا ژن خاصی را از **DNA** انسان **برش** داده و درون یک ناقل وارد نموده و پس از **همسانه سازی** توسط باکتری

آن را **وارد** زیگوت دام نموده، در نهایت این **زیگوت** **نو ترکیب** را در درون رحم یک جانور ماده قرار داده تا به زاده

تراژن برسند.



زیست فناوری و اخلاق

- + مانند همه دستاوردهای بشر، استفاده از این دستاورد علمی نیز باید با **ملاحظات** همراه باشد.
- + این ملاحظات جنبه‌های مختلف **اخلاقی**، **اجتماعی** و **ایمنی زیستی** را در بر می‌گیرند.
- + **ایمنی زیستی** شامل مجموعه‌ای از تدابیر، مقررات و روش‌هایی برای تضمین بهره‌برداری از این فناوری است.
- + قانون ایمنی زیستی به منظور استفاده مناسب از **مزایای زیست فناوری** و **پیشگیری از خطرات احتمالی** آن، در همه کشورها از جمله ایران تدوین و به تصویب رسیده است.
- + همواره سؤال‌های متعددی در مورد نتایج انواع کاربردهای زیست فناوری مطرح بوده و هست.
- + برای پاسخ به این سؤالات، پژوهش‌های زیادی در حال انجام است.
- + نتایج به دست آمده از چنین پژوهش‌هایی از طرف مجموعه‌ای از **دانشمندان** با **تخصص‌های مختلف** داوری و صدور **مجوز نهایی** توسط دستگاه‌های نظارتی انجام می‌شود.
- + تاکنون از نتایج تحقیقات انجام شده **هیچ گونه گزارشی** مبتنی بر شواهد و داده‌های علمی در مورد آثار جانبی کاربرد این فناوری، محصولات به دست آمده و خطرناک بودن آنها ارائه **نشده** است.
- + لذا با توجه به حساسیت موضوع، این تحقیقات باید **ادامه** یابند و نتایج با **دقت فراوان** مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرند.

مروری بر آنزیم‌های مهم ژنتیک و کاربرد آنها در مراحل چهارگانه زیست فناوری

نام آنزیم	عمل آنزیم	پیش‌ماده	فرآورده	محل عمل	کاربرد
هلیکاز	شکستن پیوند هیدروژنی	DNA	DNA	هسته یا سیتوپلاسم	مرحله سوم
DNA پلی‌مرار	شکستن پیوند کووالانسی تشکیل پیوند فسفودی‌استر شکستن پیوند فسفودی‌استر شکستن پیوند هیدروژنی!	دکسی‌ریبونوکلئوتید	DNA	هسته یا سیتوپلاسم	مرحله سوم
RNA پلی‌مرار	تشکیل پیوند فسفودی‌استر شکستن پیوند هیدروژنی!	ریبونوکلئوتید	RNA	هسته یا سیتوپلاسم	مرحله چهارم
rRNA	تشکیل پیوند پپتیدی	آمینواسید	پلی‌پپتید	سیتوپلاسم	مرحله چهارم
پروتئاز	شکستن پیوند پپتیدی	پروتئین	پپتید و آمینواسید	سیتوپلاسم	مرحله اول
برش‌دهنده	شکستن پیوند فسفودی‌استر شکستن پیوند هیدروژنی!	DNA	DNA	سیتوپلاسم	مرحله اول
لیگاز	تشکیل پیوند فسفودی‌استر	DNA	DNA	هسته و سیتوپلاسم	مرحله دوم