

دانشگاه پیام نور

مهندسی ژنتیک و روش‌ها

دکتر مسعود توحیدفر

«عضو هیأت علمی دانشگاه شهید بهشتی»

دکتر محمدعلی ابراهیمی

«عضو هیأت علمی دانشگاه پیام‌نور»

امروزه کتاب‌خوانی و علم‌آموزی، نه تنها یک وظیفه‌ی ملی، که یک واجب دینی است.

مقام معظم رهبری

در عصر حاضر یکی از شاخصه‌های ارزیابی رشد، توسعه و پیشرفت فرهنگی هر کشوری میزان تولید کتاب، مطالعه و کتاب‌خوانی مردم آن مرز و بوم است. ایران اسلامی نیز از دیرباز تاکنون با داشتن تمدنی چندهزارساله و مراکز متعدد علمی، فرهنگی، کتابخانه‌های معتبر، علما و دانشمندان بزرگ با آثار ارزشمند تاریخی، سرآمد دولت‌ها و ملت‌های دیگر بوده و در عرصه‌ی فرهنگ و تمدن جهانی به‌سان خورشیدی تابناک همچنان می‌درخشد و با فرزندان نیک‌نهاد خویش هنرنمایی می‌کند. چه کسی است که در دنیا با دانشمندان فرزانه و نام‌آور ایرانی همچون ابوعلی سینا، ابوریحان بیرونی، فارابی، خوارزمی و ... همچنین شاعران برجسته‌ای نظیر فردوسی، سعدی، مولوی، حافظ و ... آشنا نباشد و در مقابل عظمت آنها سر تعظیم فرود نیاورد. تمامی این افتخارات ارزشمند، برگرفته از میزان عشق و علاقه فراوان ملت ما به فراگیری علم و دانش از طریق خواندن و مطالعه منابع و کتاب‌های گوناگون است. به شکرانه‌ی الهی، تاریخ و گذشته ما، همیشه درخشان و پربار است. ولی اکنون در این زمینه در چه جایگاهی قرار داریم؟ آمار و ارقام ارائه‌شده از سوی مجامع و سازمان‌های فرهنگی در مورد سرانه‌ی مطالعه‌ی هر ایرانی، برایمان چندان امیدوارکننده نمی‌باشد و رهبر معظم انقلاب اسلامی نیز از این وضعیت بارها اظهار گله و ناخشنودی نموده‌اند.

کتاب، دروازه‌ای به سوی گستره‌ی دانش و معرفت است و کتاب خوب، یکی از بهترین ابزارهای کمال بشری است. همه‌ی دستاوردهای بشر در سراسر عمر جهان تا آنجا که قابل کتابت بوده است، در میان دست‌نوشته‌هایی است که انسان‌ها پدید آورده و می‌آورند. در این مجموعه‌ی بی‌نظیر، تعالیم الهی، درس‌های پیامبران به بشر، و همچنین علوم مختلفی است که سعادت بشر بدون آگاهی از آنها امکان‌پذیر نیست. کسی که با دنیای زیبا و زندگی‌بخش کتاب ارتباط ندارد بی‌شک از مهم‌ترین دستاوردهای انسانی و نیز از بیشترین معارف الهی و بشری محروم است. با این دیدگاه، به‌روشنی می‌توان ارزش و مفهوم رمزی عمیق در این حقیقت تاریخی را دریافت که اولین خطاب خداوند متعال به پیامبر گرامی اسلام (ص) این است که «بخوان!» و در اولین

سوره‌ای که بر آن فرستاده‌ی عظیم‌الشان خداوند، فرود آمده، نام «قلم» به تجلیل یاد شده‌است: «إِقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ. الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ» در اهمیت عنصر کتاب برای تکامل جامعه‌ی انسانی، همین بس که تمامی ادیان آسمانی و رجال بزرگ تاریخ بشری، از طریق کتاب جاودانه مانده‌اند.

دانشگاه پیام‌نور با گستره‌ی جغرافیایی ایران‌شمول خود با هدف آموزش برای همه، همه‌جا و همه‌وقت، به‌عنوان دانشگاهی کتاب‌محور در نظام آموزش عالی کشورمان، افتخار دارد جایگاه اندیشه‌سازی و خردورزی بخش عظیمی از جوانان جویای علم این مرز و بوم باشد. تلاش فراوانی در ایام طولانی فعالیت این دانشگاه انجام پذیرفته تا با بهره‌گیری از تجربه‌های گرانقدر استادان و صاحب‌نظران برجسته کشورمان، کتاب‌ها و منابع آموزشی درسی شاخص و خودآموز تولید شود. در آینده هم، این مهم با هدف ارتقای سطح علمی، روزآمدی و توجه بیشتر به نیازهای مخاطبان دانشگاه پیام‌نور با جدیت ادامه خواهد داشت. به‌طور قطع استفاده از نظرات استادان، صاحب‌نظران و دانشجویان محترم، ما را در انجام این وظیفه‌ی مهم و خطیر یاری‌رسان خواهد بود. پیشاپیش از تمامی عزیزانی که با نقد، تصحیح و پیشنهادهای خود ما را در انجام این وظیفه‌ی خطیر یاری می‌رسانند، سپاسگزاری می‌نماییم. لازم است از تمامی اندیشمندانی که تاکنون دانشگاه پیام‌نور را منزلگاه اندیشه‌سازی خود دانسته و ما را در تولید کتاب و محتوای آموزشی درسی یاری نموده‌اند، صمیمانه قدردانی گردد. موفقیت و بهروزی تمامی دانشجویان و دانش‌پژوهان عزیز آرزوی همیشگی ما است.

دانشگاه پیام‌نور

فهرست مطالب کتاب

پانزده

پیشگفتار

۱	فصل اول: مقدمه، تاریخچه و کاربردهای مهندسی ژنتیک
۱	هدف کلی
۱	هدف‌های یادگیری
۲	مقدمه
۹	۱-۱ کاربردهای مهندسی ژنتیک و موجودات تراریخته
۹	۱-۱-۱ ارتقای کیفیت محصولات
۱۰	۱-۱-۲ افزایش مستقیم عملکرد گیاهان
۱۰	۱-۱-۳ مهندسی پروتئین
۱۱	۱-۱-۴ تولید گیاهان تراریخته مقاوم به تنش‌های محیطی
۱۲	۱-۱-۵ گیاهان تراریخته مقاوم به تنش‌های زنده
۱۳	۱-۱-۶ گیاهان تراریخته مقاوم به تنش‌های غیرزنده
۱۴	۱-۱-۷ ایجاد مقاومت به علف‌کش‌ها
۱۵	۱-۱-۸ بهبود کیفیت انباری، افزایش دوام و رنگ گل‌ها
۱۶	۱-۱-۹ تولید واکسن‌های خوراکی، مواد شیمیایی، دارویی و غیره
۱۷	۱-۱-۱۰ تولید گیاهان تراریخته نرغقیم
۱۷	۱-۱-۱۱ حیوانات تراریخته
۱۸	۱-۱-۱۲ میکروب‌های تراریخته
۱۸	۱-۱-۱۳ کاربردهای مهندسی ژنتیک در صنایع غذایی
۲۰	۱-۱-۱۴ کاربرد مهندسی ژنتیک در پزشکی و داروسازی
۲۲	۱-۱-۱۵ مهندسی متابولیک
۲۴	۲-۱ ملاحظات احتمالی مهندسی ژنتیک
۲۵	خلاصه فصل اول
۲۶	خودآزمایی فصل اول

۲۷	فصل دوم: ابزارهای دست‌ورزی ژن و ساخت DNA نو ترکیب
۲۷	هدف کلی
۲۷	هدف‌های یادگیری
۲۸	مقدمه
۲۸	۱-۲ پلیمرازها
۳۱	۲-۲ نوکلئازها
۳۲	۳-۲ تیپ I آنزیم
۳۴	۴-۲ روش نام‌گذاری آنزیم‌های تیپ II
۳۴	۵-۲ تعریف واحد آنزیمی
۳۴	۶-۲ نگهداری آنزیم‌های محدودکننده
۳۵	۷-۲ نکات لازم برای کار با آنزیم‌های محدودکننده داخلی نوع دوم
۳۶	۸-۲ Star Activity
۳۶	۹-۲ ایزوشیمرازها
۳۷	۱۰-۲ نوکلئاز S1
۳۸	۱۱-۲ DNase I آنزیم
۳۸	۱۲-۲ RNase A آنزیم
۳۸	۱۳-۲ RNase H آنزیم
۳۸	۱۴-۲ آنزیم کلنو
۳۹	۱۵-۲ آنزیم لیگاز
۴۰	۱۶-۲ آنزیم‌های تغییردهنده DNA
۴۲	۱۷-۲ تبدیل انتهای صاف به انتهای چسبنده
۴۴	۱۸-۲ همسانه‌سازی
۴۸	۱۹-۲ غربالگری
۴۹	۱۹-۲-۱ غیرفعال‌سازی یک ژن عملکردی
۵۱	۱۹-۲-۲ روش غیرفعال‌سازی یک ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک
۵۱	۱۹-۲-۳ روش PCR مستقیم
۵۲	خلاصه فصل دوم
۵۳	خودآزمایی فصل دوم
۵۵	فصل سوم: تهیه DNA خالص و الکتروفورز
۵۵	هدف کلی
۵۵	هدف‌های یادگیری
۵۵	مقدمه
۵۶	۱-۳ جداسازی DNA
۵۷	۱-۳-۱ روش‌های جداسازی DNA
۵۹	۲-۳ جداکردن DNA ژنومی با وزن مولکولی بالا
۵۹	۲-۳-۱ جداکردن اسپدنوکلیک از سلول‌های باکتریایی

۵۹	۳-۳ آزمایش‌های مقدماتی پلاسمید و روش‌های جذب
۶۰	۴-۳ جداسازی پلاسمید
۶۰	۵-۳ جداسازی اسیدنوکلئیک از فاز
۶۱	۶-۳ الکتروفورز بر روی ژل
۶۲	۳-۶-۱ ژل آگاروز
۶۲	۳-۶-۲ SDS-PAGE
۶۳	۳-۷ حرکت قطعات DNA در آگاروز
۶۴	۳-۸ غلظت آگاروز
۶۴	۳-۹ شکل مولکولی
۶۴	۳-۱۰ ولتاژ
۶۵	۳-۱۱ بافر الکتروفورز
۶۵	۳-۱۲ جداسازی DNA از ژل
۶۵	۳-۱۳ ژل آگاروز
۶۶	۳-۱۴ جداسازی قطعات بزرگ DNA
۶۷	خلاصه فصل سوم
۶۸	خودآزمایی فصل سوم
۶۹	فصل چهارم: انواع ناقل‌های همسانه‌سازی
۶۹	هدف کلی
۶۹	هدف‌های یادگیری
۷۰	مقدمه
۷۰	۴-۱ پلاسمید
۷۲	۴-۱-۱ همانندسازی
۷۲	۴-۱-۲ گروه‌های ناسازگار
۷۲	۴-۱-۳ کنترل تعداد نسخه
۷۲	۴-۱-۴ قسمت‌بندی (تفکیک)
۷۳	۴-۲ انواع پلاسمیدها
۷۳	۴-۲-۱ پلاسمیدهای هم‌یوغ و غیرهم‌یوغ (پیوسته و غیرپیوسته)
۷۳	۴-۳ طبقه‌بندی پلاسمیدها براساس عملکرد
۷۵	۴-۴ ساختمان پلاسمیدها
۷۵	۴-۵ مبدأ همانندسازی (Ori)
۷۵	۴-۶ نشانگرهای انتخابی
۷۶	۴-۷ جایگاه همسانه‌سازی
۷۶	۴-۸ همانندسازی پلاسمیدها
۷۶	۴-۹ پلاسمیدها به‌عنوان ناقل
۷۶	۴-۹-۱ انواع پلاسمیدها بر اساس نوع همانندسازی
۷۹	۴-۱۰ برخی پلاسمیدهای ناقل مهم

۷۹	pBR322 ۱-۱۰-۴
۸۰	pUC18 و pUC19 ۲-۱۰-۴
۸۱	۳-۱۰-۴ پلاسمیدهای مخمری
۸۱	۱۱-۴ پلاسمید Ti
۸۴	۱۲-۴ باکتریوفازها به عنوان ناقل ها
۸۴	۱۳-۴ ساختار باکتریوفازها
۸۶	۱۴-۴ مکانیسم آلودگی میزبان
۸۷	۱۵-۴ چرخه تکثیر فاز
۸۷	۱-۱۵-۴ حلقوی شدن کروموزوم فاز
۸۷	۲-۱۵-۴ فازهای لیزکننده (تجزیه کننده دیواره سلولی) و لیزوژنیک
۸۷	۳-۱۵-۴ فازهای مخرب یا لیزکننده
۸۸	۴-۱۵-۴ فاز انباشته در سلول
۸۸	۵-۱۵-۴ لیز شدن و رهایی فاز
۸۸	۶-۱۵-۴ فاز معتدل یا لیزوژنی
۸۹	۱۶-۴ جایگاه اختصاصی نوترکیبی
۸۹	۱۷-۴ خاتمه لیزوژنی
۹۰	۱۸-۴ اهمیت لیزوژنی
۹۰	۱۹-۴ طبقه بندی فاز
۹۱	۲۰-۴ باکتریوفاز لامبدأ به عنوان ناقل
۹۵	۲۱-۴ فاز M13
۹۵	۲۲-۴ چرخه زندگی M13
۹۵	۲۳-۴ M13 به عنوان یک ناقل
۹۶	۲۴-۴ فازمیدها
۹۶	۲۵-۴ کاسمیدها
۹۷	۲۶-۴ کاربرد کاسمید به عنوان ناقل
۹۹	۲۷-۴ ناقل های گیاهی
۹۹	۲۸-۴ CaMV
۱۰۱	۲۹-۴ چرخه زندگی CaMV
۱۰۱	۳۰-۴ پلاسمید Ti
۱۰۲	۳۱-۴ ویروس های جانوری
۱۰۳	۳۲-۴ SV40 (ویروس بوزینه)
۱۰۴	۳۳-۴ آدنوویروس ها
۱۰۴	۳۴-۴ ناقل های یوکاریوتی
۱۰۵	۳۵-۴ ناقل های مخمر
۱۰۶	۳۶-۴ ناقل های پلاسمید الحاقی مخمری
۱۰۶	۳۷-۴ ناقل های پلاسمیدی اپی زومی مخمر

۱۰۶	۳۸-۴ کروموزوم‌های مصنوعی مخمر
۱۰۸	خلاصه فصل چهارم
۱۱۰	خودآزمایی فصل چهارم
۱۱۱	فصل پنجم: تهیه کتابخانه ژنومی، cDNA و روش‌های شناسایی ژن از کتابخانه
۱۱۱	هدف کلی
۱۱۱	هدف‌های یادگیری
۱۱۲	مقدمه
۱۱۲	۱-۵ کتابخانه ژنومی
۱۱۶	۲-۵ کتابخانه‌های cDNA
۱۲۳	۳-۵ ساخت کتابخانه cDNA
۱۲۴	۴-۵ روش‌های شناسایی ژن از کتابخانه ژنومی
۱۲۴	۵-۵ غربالگری براساس دورگ‌گیری اسیدهای نوکلئیک
۱۲۷	۶-۵ روش هیبریداسیون نوردن بلات
۱۲۷	۷-۵ غربالگری ایمونولوژیکی
۱۲۹	۸-۵ غربالگری براساس عملکرد پروتئین
۱۳۰	۹-۵ نمایش فازی
۱۳۰	۱۰-۵ روش نشان‌دارکردن اسید نوکلئیک
۱۳۰	۱-۱۰-۵ پرکردن شکاف
۱۳۱	۲-۱۰-۵ نشان‌دارکردن به روش پرایمرهای تصادفی
۱۳۱	۱۱-۵ روش‌های غیر رادیواکتیو
۱۳۲	خلاصه فصل پنجم
۱۳۴	خودآزمایی فصل پنجم
۱۳۷	فصل ششم: روش‌های بررسی بیان ژن
۱۳۷	هدف کلی
۱۳۷	هدف‌های یادگیری
۱۳۸	مقدمه
۱۳۸	۱-۶ اصول و مبانی Real Time PCR
۱۴۵	۲-۶ استفاده از Real Time PCR در کمی‌سازی نسبی
۱۴۷	خلاصه فصل ششم
۱۴۸	خودآزمایی فصل ششم
۱۴۹	فصل هفتم: تکنیک‌های توالی‌یابی DNA
۱۴۹	هدف کلی
۱۴۹	هدف‌های یادگیری
۱۴۹	مقدمه

۱۵۰	۱-۷ توالی‌یابی با استفاده از روش شیمیایی (روش ماکسام – گیلبرت)
۱۵۱	۲-۷ توالی‌یابی به وسیله خاتمه‌دهنده زنجیره (روش سانگر-کولسون)
۱۵۶	۳-۷ توالی‌یابی خودکار
۱۵۹	۴-۷ روش گام‌زنی به کمک آغازگر
۱۵۹	۵-۷ تعیین توالی Shotgan (توالی‌یابی شلیک تصادفی)
۱۶۱	۶-۷ روش پاپروسکونسیپینگ
۱۶۲	۷-۷ تکنیک‌های نسل جدید توالی‌یابی (NGS)
۱۶۳	۱-۷-۷ کاربردهای NGS
۱۶۵	خلاصه فصل هفتم
۱۶۷	خودآزمایی فصل هفتم

۱۶۹ فصل هشتم: انتقال ژن به گیاهان و آنالیز مولکولی گیاهان تراریخته

۱۶۹	هدف کلی
۱۶۹	هدف‌های یادگیری
۱۷۰	مقدمه
۱۷۰	۱-۸ کشت بافت
۱۷۱	۲-۸ فرایند انتقال ژن
۱۷۱	۱-۲-۸ الکتروپوریشن
۱۷۲	۲-۲-۸ روش انتقال ژن با واسطه آگروباکتریوم
۱۷۷	۳-۲-۸ تفنگ ژنی
۱۷۹	۴-۲-۸ روش ریز تزریقی
۱۸۰	۵-۲-۸ روش لیپوزومی
۱۸۱	۶-۲-۸ دیگر روش‌های انتقال ژن
۱۸۱	۷-۲-۸ استفاده از سیلیکون‌کارباید ویسکر
۱۸۵	۳-۸ آنالیز مولکولی گیاهان تراریخته
۱۸۵	۱-۳-۸ آنالیز در سطح DNA
۱۸۹	۴-۸ بررسی گیاه تراریخته در سطح RNA
۱۹۰	۵-۸ آنالیز در سطح پروتئین
۱۹۳	۶-۸ ارزیابی فنوتیپی
۱۹۴	خلاصه فصل هشتم
۱۹۶	خودآزمایی فصل هشتم

۱۹۷ فصل نهم: کشاورزی مولکولی

۱۹۷	هدف کلی
۱۹۷	هدف‌های یادگیری
۱۹۸	مقدمه
۱۹۸	۱-۹ کشاورزی مولکولی

۲۰۳	۲-۹ آنالیز مولکولی
۲۰۵	خلاصه فصل نهم
۲۰۶	خودآزمایی فصل نهم
۲۰۷	فصل دهم: ایمنی زیستی گیاهان تراریخته
۲۰۷	هدف کلی
۲۰۷	هدف‌های یادگیری
۲۰۷	مقدمه
۲۰۸	۱-۱۰ چند اصطلاح مهم در ایمنی زیستی
۲۰۹	۲-۱۰ ارزیابی احتمال خطر گیاهان تراریخته
۲۱۱	خلاصه فصل دهم
۲۱۲	خودآزمایی فصل دهم
۲۱۵	فصل یازدهم: ریزآرایه
۲۱۵	هدف کلی
۲۱۵	هدف‌های یادگیری
۲۱۵	مقدمه
۲۱۷	۱-۱۱ اساس ریزآرایه DNA
۲۱۹	۲-۱۱ کاربردهای ریزآرایه
۲۱۹	۱-۲-۱۱ بررسی بیان ژن و تغییرات آن
۲۲۱	۲-۲-۱۱ تعیین الگوی بیانی در سلول‌های سالم و بیمار سرطانی
۲۲۱	۳-۲-۱۱ مشخص کردن نوع سلول
۲۲۱	۴-۲-۱۱ دورگ‌سازی مقایسه‌ای ژنومی
۲۲۱	۵-۲-۱۱ تعیین چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP)
۲۲۲	۳-۱۱ ریزآرایه پروتئین
۲۲۴	۱-۳-۱۱ استفاده از پروتئین ریزآرایه در تشخیص بیماری خود ایمنی
۲۲۵	۲-۳-۱۱ استفاده از ریزآرایه پروتئین در تشخیص سرطان
۲۲۵	۳-۳-۱۱ استفاده از ریزآرایه پروتئین در مطالعات تغییرات پس از ترجمه
۲۲۶	۴-۳-۱۱ ریزآرایه پروتئین برای شناسایی فسفوریلاسیون
۲۲۶	۵-۳-۱۱ شناسایی حالت‌های استیلاسیون با استفاده از ریزآرایه پروتئین
۲۲۷	خلاصه فصل یازدهم
۲۲۹	خودآزمایی فصل یازدهم
۲۳۱	فصل دوازدهم: ویرایش و مهندسی ژنوم
۲۳۱	هدف کلی
۲۳۱	هدف‌های یادگیری
۲۳۱	مقدمه

۲۳۳	۱-۱۲ ویرایش هدفدار ژنوم
۲۳۴	۱-۱۲ ابزارهای مهندسی ژنوم
۲۳۵	۱-۲-۱۲ مگانوکلئازها
۲۳۶	۲-۲-۱۲ نوکلئازهای انگشت روی (ZFNS)
۲۳۹	۳-۲-۱۲ نوکلئازهای اثرگذار شبه فعال‌کننده رونویسی (TALENs)
۲۴۴	۴-۲-۱۲ سیستم CRISPR/Cas9
۲۷۶	خلاصه فصل دوازدهم
۲۷۷	خودآزمایی فصل دوازدهم
۲۷۹	فصل سیزدهم: روش‌های آزمایشگاهی در مهندسی ژنتیک
۲۷۹	هدف کلی
۲۷۹	هدف‌های یادگیری
۲۸۰	مقدمه
۲۸۱	۱-۱۳ روش آزمایشگاهی اول
۲۸۱	کشت فاز لاند (λ)
۲۸۵	۲-۱۳ روش آزمایشگاهی دوم
۲۸۵	استخراج DNA لاند (λ)
۲۸۷	۳-۱۳ روش آزمایشگاهی سوم
۲۸۷	جداسازی اسیددزوکسی‌ریبونوکلئیک (DNA)
۲۹۰	۴-۱۳ روش آزمایشگاهی چهارم
۲۹۰	استخراج DNA گیاهی
۲۹۳	۵-۱۳ روش آزمایشگاهی پنجم
۲۹۳	استخراج DNA کل گیاهی (روش سریع)
۲۹۶	۶-۱۳ روش آزمایشگاهی ششم
۲۹۶	جداسازی اسید ریبونوکلئیک
۲۹۹	۷-۱۳ روش آزمایشگاهی هفتم
۲۹۹	اندازه‌گیری DNA
۳۰۱	۸-۱۳ روش آزمایشگاهی هشتم
۳۰۱	اندازه‌گیری RNA
۳۰۳	۹-۱۳ روش آزمایشگاهی نهم
۳۰۳	جداسازی mRNA با استفاده از کروماتوگرافی جاذب
۳۰۶	۱۰-۱۳ روش آزمایشگاهی دهم
۳۰۶	جداسازی پلاسمیدها
۳۱۲	۱۱-۱۳ روش آزمایشگاهی یازدهم
۳۱۲	روش جداسازی سریع DNA پلاسمید (Mini screen)
۳۱۵	۱۲-۱۳ روش آزمایشگاهی دوازدهم
۳۱۵	برش DNA

۳۱۸	۱۳-۱۳ روش آزمایشگاهی سیزدهم
۳۱۸	الکتروفورز DNA در ژل آگارز
۳۲۲	۱۴-۱۳ روش آزمایشگاهی چهاردهم
۳۲۲	بازیابی قطعات DNA از روی ژل آگارز
۳۲۴	۱۵-۱۳ روش آزمایشگاهی پانزدهم
۳۲۴	لکه گذاری سادرن
۳۲۹	۱۶-۱۳ روش آزمایشگاهی شانزدهم
۳۲۹	الکتروفورز ژل تکه ای پلی اکریل آمید - سدیم دودسیل سولفات
۳۴۹	واژگان توصیفی
۳۷۵	منابع

پیشگفتار

مهندسی ژنتیک با کاربردهای فراوان به عنوان یکی از برجسته ترین نشانه های پیشرفت در عصر حاضر و یکی از ابزارهای بیوتکنولوژی، تلاش دارد تا قلمرو حیات را محدود به مرزهای فعلی ننماید و بتواند این مرزها را با روش های نوین به منظور حل مشکلات بشریت گسترش دهد. اکنون با توسل به روش های مهندسی ژنتیک، امکان ساخت DNA نو ترکیب، ادغام و انتقال ژن ها در سلول هدف امکان پذیر شده است. از طرف دیگر برطرف شدن بسیاری از چالش های بشر از جمله امنیت غذایی، درمان برخی بیماری ها و رفع مشکلات زیست محیطی و غیره با بهره گیری از این علم امکان پذیر شده است. برای نیل به این هدف باید به این علم و تکنیک های آن مسلط شد. لذا تلاش گردیده تا اثر حاضر که حاصل ویرایش، تجدیدنظر و به روزسانی علمی کتاب اصول و مبانی مهندسی ژنتیک است، به عنوان یک منبع علمی دانشجویان و دانش پژوهان را در آشنایی با این مهم یاری رسان باشد. خداوند بزرگ را سپاسگزاریم که این توفیق را به ما عطا فرمود.

لازم است این فرصت را غنیمت شمرده از جناب آقای دکتر بی همتا، استاد برجسته دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران که زحمت ویراستاری این اثر را کشیده اند و همچنین از جناب آقای دکتر محمدرضا زمانی، استاد پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری که در ارتقای این اثر نقش مهمی داشته اند، سپاسگزاری ویژه نماییم. همچنین از زحمات سرکار خانم مهندس ایلیناز احمدی نیک در تدوین این اثر سپاسگزاری می شود.

لازم است از زحمات سرکار خانم دکتر مطهره محسن پور و دکتر محمدرضا غفاری که در بررسی علمی کتاب همکاری اثربخشی داشته‌اند تشکر نموده و همچنین از مساعدت و همکاری آقای مهندس حمیدرضا فرنی نیز قدردانی نمائیم.

لازم است از خانواده عزیزمان که در نهایت شکیبایی ما را در ارائه این اثر یاری کرده و به ادامه این کار علمی تشویق نمودند، صمیمانه سپاسگزاری نمائیم. امید است با نظرات دانشجویان، استادان و محققان محترم در آینده شاهد ارتقای علمی این اثر باشیم.

محمدعلی ابراهیمی

دانشیار گروه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور

مسعود توحیدفر

دانشیار گروه بیوتکنولوژی دانشگاه شهید بهشتی

پائیز ۱۳۹۶

فصل اول

مقدمه، تاریخچه و کاربردهای مهندسی ژنتیک

هدف کلی

هدف کلی این فصل عبارت است از: آشنا ساختن شما با مفهوم مهندسی ژنتیک و دست کاری ژن ها، بیان پیشینه ای از تاریخچه این علم در جهان و ایران و جنبه های کاربردی مهندسی ژنتیک

هدف های یادگیری

برای رسیدن به هدف کلی فوق، باید به هدف های یادگیری جزئی زیر دست یابید. یعنی بتوانید:

۱. مهندسی ژنتیک را تعریف کنید.
۲. به اختصار مراحل مهندسی ژنتیک را توضیح دهید.
۳. تاریخچه مختصری از مهندسی ژنتیک را بنویسید.
۴. کاربردهای مهندسی ژنتیک برای افزایش مستقیم عملکرد گیاهان را توضیح دهید.
۵. مهندسی پروتئین و کاربردهای آن را بیان نمایید.
۶. مثال هایی از تولید گیاهان تراریخته مقاوم به تنش های محیطی زنده را بیان کنید.
۷. چند ژن مؤثر در ایجاد مقاومت به تنش خشکی را نام ببرید.
۸. ایجاد مقاومت به علف کش به وسیله مهندسی ژنتیک را به اختصار شرح دهید.
۹. مکانیسم عمل برخی ژن های مؤثر در افزایش عمر ماندگاری میوه در انبار را بیان کنید.

۱۰. مثالی از تولید گل‌هایی با رنگ‌های جدید را ارائه نمایید.
۱۱. واکسن‌های خوراکی را شرح دهید.
۱۲. کشاورزی مولکولی را تعریف کنید.
۱۳. برخی از قابلیت‌های مهندسی ژنتیک و مهندسی پروتئین را در صنعت و محیط‌زیست را شرح دهید.
۱۴. کاربرد مهندسی ژنتیک در تولید تجاری هورمون‌ها و آنزیم‌ها را در قالب چند مثال بیان کنید.
۱۵. تولید گیاهان نرغقیم به وسیله دست‌کاری ژنتیکی را شرح دهید.
۱۶. کاربرد حیوانات تراریخته را ارائه نمایید.
۱۷. ژن‌درمانی را تعریف کنید.
۱۸. نگرانی‌های بشر نسبت به مهندسی ژنتیک را توضیح دهید.
۱۹. چالش‌های موجود در روند انجام مهندسی ژنتیک را بیان نمایید.

مقدمه

امروزه دانش، فن و کاربرد مهندسی ژنتیک در عرصه‌های بسیار متنوع مانند کشاورزی، تغذیه و مواد غذایی، دامپروری، شاخه‌های مختلف کشاورزی، علوم پزشکی و صنایع دارویی، صنایع تخمیری، صنایع نظامی، انرژی، محیط‌زیست و بهداشت کاربردهای بسیار ارزشمندی پیدا کرده‌است. اهمیت بعضی از اصول علمی، در زمان کشف آن‌ها مشخص نمی‌شود، بلکه پس از مدت زمانی که می‌گذرد ارزش آن‌ها معلوم می‌شود. یکی از مثال‌های روشن این مسئله، کشف ساختمان سه‌بعدی DNA به وسیله جیمز واتسون و فرانسیس کریک در سال ۱۹۵۳ بود. این ساختمان نسبتاً ساده، باعث شد تا دانشمندان سیستم‌های مختلف ژنتیکی را بررسی کنند. پس از آن دانشمندان مختلف سعی کردند که از این اطلاعات استفاده نمایند. هدف آن‌ها نیز بیان ساده‌ای داشت. آن‌ها خواستند تا DNA را از یک موجود بگیرند و در ژنوم موجود دیگر ادغام نمایند تا اثرات آن ژن، در موجود ثانویه بروز کند. مهندسی ژنتیک شاخه جدید و قابل توسعه‌ای از بیوتکنولوژی است که به‌طور خلاصه دست‌ورزی ژن‌های^۱ یک موجود تحت شرایط

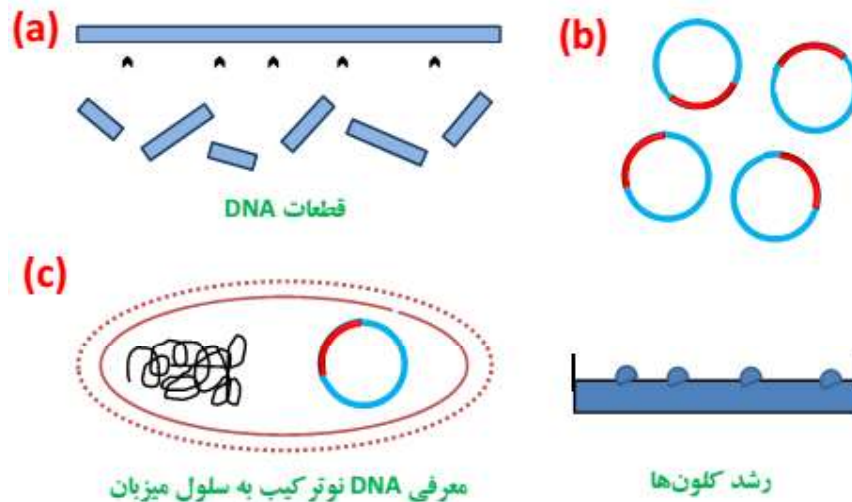
کنترل شده آزمایشگاهی، به منظور رسیدن به یک بیان تغییر یافته از ژن مورد انتخاب است. به عبارت دیگر مهندسی ژنتیک، به مجموعه روش هایی گفته می شود که به منظور جداسازی، خالص سازی، وارد کردن و بیان یک ژن خاص در یک میزبان به کار می رود و نهایت منجر به بروز یک صفت خاص و یا تولید محصول مورد نظر در جاندار میزبان می شود. کاربردهای مهندسی ژنتیک تقریباً نامحدود به نظر می رسد (۹، ۱۳۹).

مهندسی ژنتیک به طور خلاصه شامل مراحل زیر است:

- **جداسازی ژن^۱ مورد نظر:** در این مرحله ژن مورد نظر شناسایی، استخراج و تخلیص می شود. این ساختار ژنتیکی همچنین DNA دهنده^۲ یا DNA هدف^۳ نامیده می شود (۲۹، ۱۵۲).
- **انتخاب ناقل^۴:** ژن مورد نظر توسط ناقل وارد سلول میزبان می شود. ناقل عبارت است از یک مولکول DNA خود تکثیر^۵ که ژن مورد نظر به آن متصل می شود. معمولاً مولکول های DNA ویروسی، پلاسمیدها و کروموزوم های مصنوعی به عنوان ناقل به کار می روند، اما روش های انتقال فیزیکی DNA هم معرفی شده و وجود دارد.
- **همسانه سازی (همسانه کردن) ژن مورد نظر در ناقل:** هدف از همسانه سازی ژن، به دست آوردن مقادیر زیادی از ژن های خاص به صورت خالص است. هدف اصلی همسانه سازی ژن، انتقال ژن مورد نظر از داخل یک ژنوم بزرگ و پیچیده به داخل یک ناقل ساده و کوچک و تکثیر آن است. در مرحله بعد، تعداد زیادی نسخه یکسان از ژن مورد نظر به منظور انتقال های بعدی این ژن به سلول های هدف تولید می شوند. امروزه همسانه سازی ژن، فرایندی سریع و ماشینی است که با استفاده از دستگاه PCR^۶ که واکنش رنجیره ای پلیمراز را انجام می دهد به سهولت انجام می گیرد (۴۳).
- **انتقال اختصاصی ژن به سلول های میزبان:** ژن مورد نظر به یکی از روش های انتقال ژن به سلول های میزبان و هدف منتقل می شود. سلول هایی که ژن را دریافت کرده اند در مرحله بعد باید غربالگری، انتخاب و تکثیر شوند.

1. Gene Isolation
2. Donor DNA
3. Target DNA
4. Vector
5. Replicon
6. Polymerase Chain Reaction

- بیان ژن و ایجاد صفت موردنظر: ژن موردنظر که به میزبان انتقال یافته، باید بتواند محصولات کاربردی خود و در نتیجه صفات مرتبط ما را در میزبان جدید بیان کند. محصول ژن‌ها عمدتاً پروتئین‌ها هستند و از محصولات غیرپروتئینی می‌توان به rRNA، tRNA، snRNA اشاره کرد (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱. همسانه‌سازی قطعه DNA: (a) منبع DNA جداسازی شده و قطعه‌قطعه شده در اندازه مناسب (b) قطعات ملحق شده به ناقل برای تولید مولکول‌های DNA نو ترکیب در این مورد ناقل پلاسمید نشان داده شده است (c) معرفی مولکول DNA نو ترکیب به سلول میزبان برای تکثیر کلون‌ها (در این شکل سلول میزبان یک باکتری است) (۱۵).

سال ۱۹۷۰ که آن را می‌توان نقطه آغاز مهندسی ژنتیک دانست، زمانی بود که اولین آنزیم برشی (محدودکننده) توسط اسمیت^۱ در باکتری *Haemophilus influenzae* کشف شد. بعداً این آنزیم به *HindIII* معروف گردید. در سال بعد دانیل ناتانر^۲ اولین نقشه برشی DNA حلقوی ویروس SV40 را با استفاده از این آنزیم تهیه و ارائه کرد. در سال ۱۹۷۲ لوبان و کیسر^۳ از DNA لیگاز برای اتصال دو قطعه DNA و ساخت مولکول DNA نو ترکیب استفاده نمودند. یک سال بعد بویر و کوهن^۴ موفق به ادغام DNA ویروسی و باکتریایی در یک پلاسمید شدند و به این ترتیب نخستین موجود حامل DNA نو ترکیب ساخته شد. تحقیقات

1. Hamilton O. Smith
2. Daniel Natanera
3. Lobban and Kaiser
4. Herbert Boyer and Stanley Cohen

ادامه داشت تا اینکه در سال ۱۹۷۷ نخستین پروتئین انسانی (هورمون سوماتواستاتین) همسانه‌سازی شد و مهندسی ژنتیک توانست برای اولین بار در سطح انبوه، محصولی را تولید کند. در همین سال روش «خاتمه‌زنجیره به کمک دی‌داکسی نوکلئوتیدها»^۱ (dNTPs) و روش دیگری مبتنی بر تجزیه شیمیایی زنجیره DNA، برای توالی‌یابی DNA به جامعه علمی معرفی شد. پلاسمید Ti که در مهندسی ژنتیک گیاهی استفاده می‌شود، برای اولین بار در سال ۱۹۷۳ ساخته شد. در سال ۱۹۷۸ نخستین داروی تغییر یافته ژنتیکی برای مصارف انسانی که حاوی ژن انسولین انسانی بود، به بازار ارائه شد. در سال ۱۹۷۸ نخستین واکسن علیه ویروس هپاتیت B توسط تکنولوژی DNA نو ترکیب ساخته شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در سال ۱۹۸۳ توسط کری مولیس^۲ معرفی و امکان تکثیر و سنتز DNA کافی برای مهندسی ژنتیک را فراهم کرد. به دنبال این توسعه علمی، تحقیقات زیر به سرعت باعث تحول در علم مهندسی ژنتیک شد (۲۸، ۳۱، ۱۶۴).

۱۹۸۴: تولد یک نوزاد انسان، از یک جنین منجمد

۱۹۸۶: سلول‌های جنین، از گوسفند شبیه‌سازی شد.

۱۹۸۷: معرفی موش تراریخته با انتقال DNA به داخل جنین آن به عنوان اول حیوان

تراریخته توسط Rudolf Jaenisch

۱۹۹۰: آغاز پروژه ژنوم انسانی با مدل‌سازی کامل ژنوم انسان توسط جیمز واتسون^۳ و

همکاران

۱۹۹۰: تولید مایه پنیر مصنوعی کیموزین با استفاده از باکتری‌ها که هم‌اکنون نیمی از

پنیر آمریکا به کمک آن تولید می‌شود.

۱۹۹۰: سازمان غذا و داروی ایالات متحده^۴ (FDA)، اولین مواد غذایی اصلاح شده

ژنتیکی را تأیید کرد.

۱۹۹۱: ژن درمانی برای اولین بار بر روی انسان آزمایش شد.

۱۹۹۳: هورمون رشد گاوی^۵ (BGH) در باکتری تولید شد، که به عنوان دارو به گاوها

خورانده می‌شود و موجب افزایش تولید شیر آن‌ها می‌گردد.

1. High Quality Deoxynucleotide Triphosphates (dNTPs)

2. Kary Mullis

3. James Watson

4. Food and Drug Administration (FDA)

5. Bovine Growth Hormone