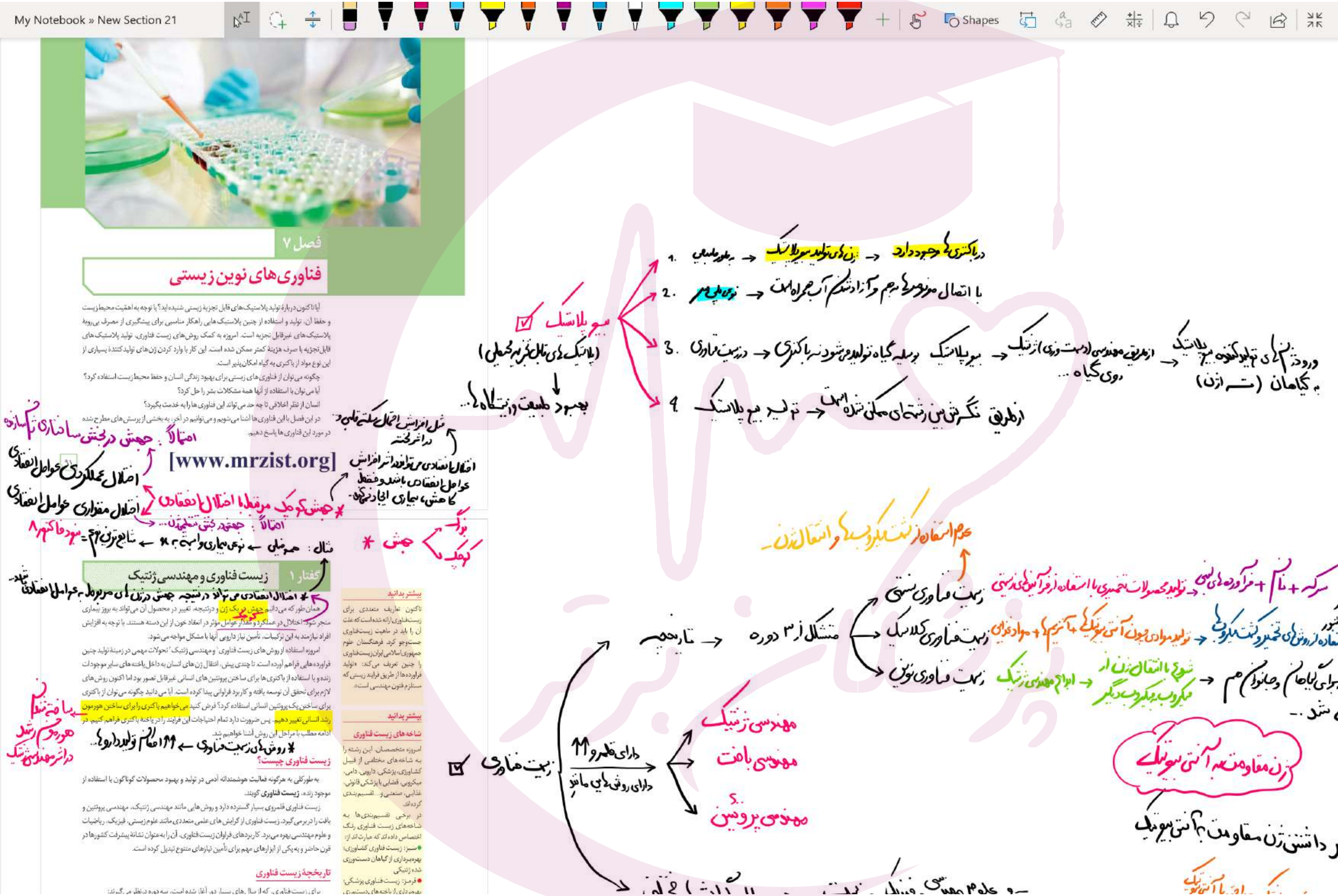


فصل ۷

فناوری‌های نوین زیستی

آیا تاکنون دربارهٔ تولید پلاستیک‌های قابل تجزیهٔ زیستی شنیده‌اید؟ با توجه به اهمیت محیط زیست و حفظ آن، تولید و استفاده از چنین پلاستیک‌هایی راهکار مناسبی برای پیشگیری از مصرف بی‌رویهٔ پلاستیک‌های غیرقابل تجزیه است. امروزه به کمک روش‌های زیست فناوری، تولید پلاستیک‌های قابل تجزیه با صرف هزینهٔ کمتر ممکن شده است. این کار با وارد کردن ژن‌های تولید کنندهٔ بسیاری از این نوع مواد از باکتری به گیاه امکان‌پذیر است.

چگونه می‌توان از فناوری‌های زیستی برای بهبود زندگی انسان و حفظ محیط زیست استفاده کرد؟

آیا می‌توان با استفاده از آنها همهٔ مشکلات بشر را حل کرد؟

انسان از نظر اخلاقی تا چه حد می‌تواند این فناوری‌ها را به خدمت بگیرد؟

در این فصل با این فناوری‌ها آشنا می‌شویم و می‌توانیم در آخر، به بخشی از پرسش‌های مطرح شده در مورد این فناوری‌ها پاسخ دهیم.

[www.mrzist.org]

گفتار ۱ زیست فناوری و مهندسی ژنتیک

همان‌طور که می‌دانیم جهش در یک ژن و درنتیجه، تغییر در محصول آن می‌تواند به بروز بیماری منجر شود. اختلال در عملکرد و مقدار عوامل مؤثر در انعقاد خون از این دسته هستند. با توجه به افزایش افراد نیازمند به این ترکیبات، تأمین نیاز دارویی آنها با مشکل مواجه می‌شود.

امروزه استفاده از روش‌های زیست فناوری[1] و مهندسی ژنتیک[2] تحولات مهمی در زمینهٔ تولید چنین فراورده‌هایی فراهم آورده است. تا چندی پیش، انتقال ژن‌های انسان به داخل یاخته‌های سایر موجودات زنده و یا استفاده از باکتری‌ها برای ساختن پروتئین‌های انسانی غیرقابل تصور بود اما اکنون روش‌های لازم برای تحقق آن توسعه یافته و کاربرد فراوانی پیدا کرده است. آیا می‌دانید چگونه می‌توان از باکتری برای ساختن یک پروتئین انسانی استفاده کرد؟ فرض کنید می‌خواهیم باکتری را برای ساختن هورمون رشد انسانی تغییر دهیم. پس ضرورت دارد تمام احتیاجات این فرایند را در یاختهٔ باکتری فراهم کنیم. در ادامه مطلب با مراحل این روش آشنا خواهیم شد.

زیست فناوری چیست؟

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

زیست فناوری قلمروی بسیار گسترده دارد و روش‌هایی مانند مهندسی ژنتیک، مهندسی پروتئین و بافت را دربرمی‌گیرد. زیست فناوری از گرایش‌های علمی متعددی مانند علوم زیستی، فیزیک، ریاضیات و علوم مهندسی بهره می‌برد. کاربردهای فراوان زیست فناوری، آن را به‌عنوان نشانهٔ پیشرفت کشورها در قرن حاضر و به یکی از ابزارهای مهم برای تأمین نیازهای متنوع تبدیل کرده است.

تاریخچهٔ زیست فناوری

برای زیست فناوری، که از سال‌های بسیار دور آغاز شده است، سه دوره درنظر می‌گیرند:

بیشتر بدانید

تاکنون تعاریف متعددی برای زیست‌فناوری ارائه شده است که علت آن را باید در ماهیت زیست‌فناوری جست‌وجو کرد. فرهنگستان علوم جمهوری اسلامی ایران زیست‌فناوری را چنین تعریف می‌کند: «تولید فراورده‌ها از طریق فرایند زیستی که مستلزم فنون مهندسی است».

بیشتر بدانید

شاخه‌های زیست فناوری

امروزه متخصصان، این رشته را به شاخه‌های مختلفی از قبیل کشاورزی، پزشکی، دارویی، دامی، میکروبی، قضایی یا پزشکی قانونی، غذایی، صنعتی و... تقسیم‌بندی کرده‌اند.

در برخی تقسیم‌بندی‌ها به شاخه‌های زیست فناوری رنگ اختصاص داده‌اند که عبارت‌اند از:

- ● سبز: زیست فناوری کشاورزی؛ بهره‌برداری از گیاهان دست‌ورزی شده ژنتیکی
- ● قرمز: زیست فناوری پزشکی؛ بهره‌برداری از یاخته‌های دست‌ورزی

☑ بیوپلاستیک
(پلاستیک‌های قابل تجزیه محیطی)
↓
بهبود طبیعت و زیستگاه‌ها...

1. به‌طور طبیعی → ژن‌های تولید بیوپلاستیک → در باکتری‌ها وجود دارد
2. نوعی پلیمر → با اتصال مونومرها به هم و آزاد شدن آب همراه است
3. در زیست فناوری → بیوپلاستیک به وسیله گیاه تولید می‌شود نه باکتری → ژنتیک از طریق مهندسی (دست‌ورزی) روی گیاه... → ورود ژن‌های تولیدکننده بیوپلاستیک به گیاهان (تست از ژن)
4. از طریق نگرش بین رشته‌ای ممکن شده است → تولید بیوپلاستیک

مثل افزایش احتمال سکته قلبی و... در اثر لخته

اختلال انعقادی می‌تواند اثر افزایش عوامل انعقادی باشد و فقط کاهش، بیماری ایجاد نمی‌کند.

احتمالاً: جهش در بخش ساختاری ژن سازنده

اختلال عملکردی عوامل انعقادی

اختلال مقداری عوامل انعقادی

* جهش کوچک مرتبط با اختلال انعقادی

احتمالاً: جهش در بخش تنظیمی ژن...

* جهش < بزرگ / کوچک

مثال: هموفیلی → نوعی بیماری وابسته به X → شایع‌ترین نوع = نبود فاکتور ۸

* اختلال انعقادی می‌تواند در نتیجه جهش در ژن‌های مربوط به عوامل انعقادی باشد.

کوچک

به ساخت هورمون رشد هورمون رشد در اثر مهندسی ژنتیک

* روش‌های زیست فناوری → ۱۰۰٪ امکان تولید داروها...

عدم استفاده از کشت میکروب‌ها و انتقال ژن.

☑ زیست فناوری → تاریخچه → متشکل از ۳ دوره

- زیست فناوری سنتی → تولید محصولات تخمیری با استفاده از فرآیندهای زیستی → فراورده‌های لبنی + نان + سرکه
- زیست فناوری کلاسیک → تولید موادی چون آنتی‌بیوتیک‌ها + آنزیم‌ها + مواد غذایی → استفاده از روش‌های تخمیر و کشت میکروب‌ها
- زیست فناوری نوین → ابزار مهندسی ژنتیک → شروع با انتقال ژن از میکروب به میکروب دیگر → برای گیاهان و جانوران هم ... شد.

زن مقاوم به آنتی‌بیوتیک

داشتن ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک

آنتی‌بیوتیک

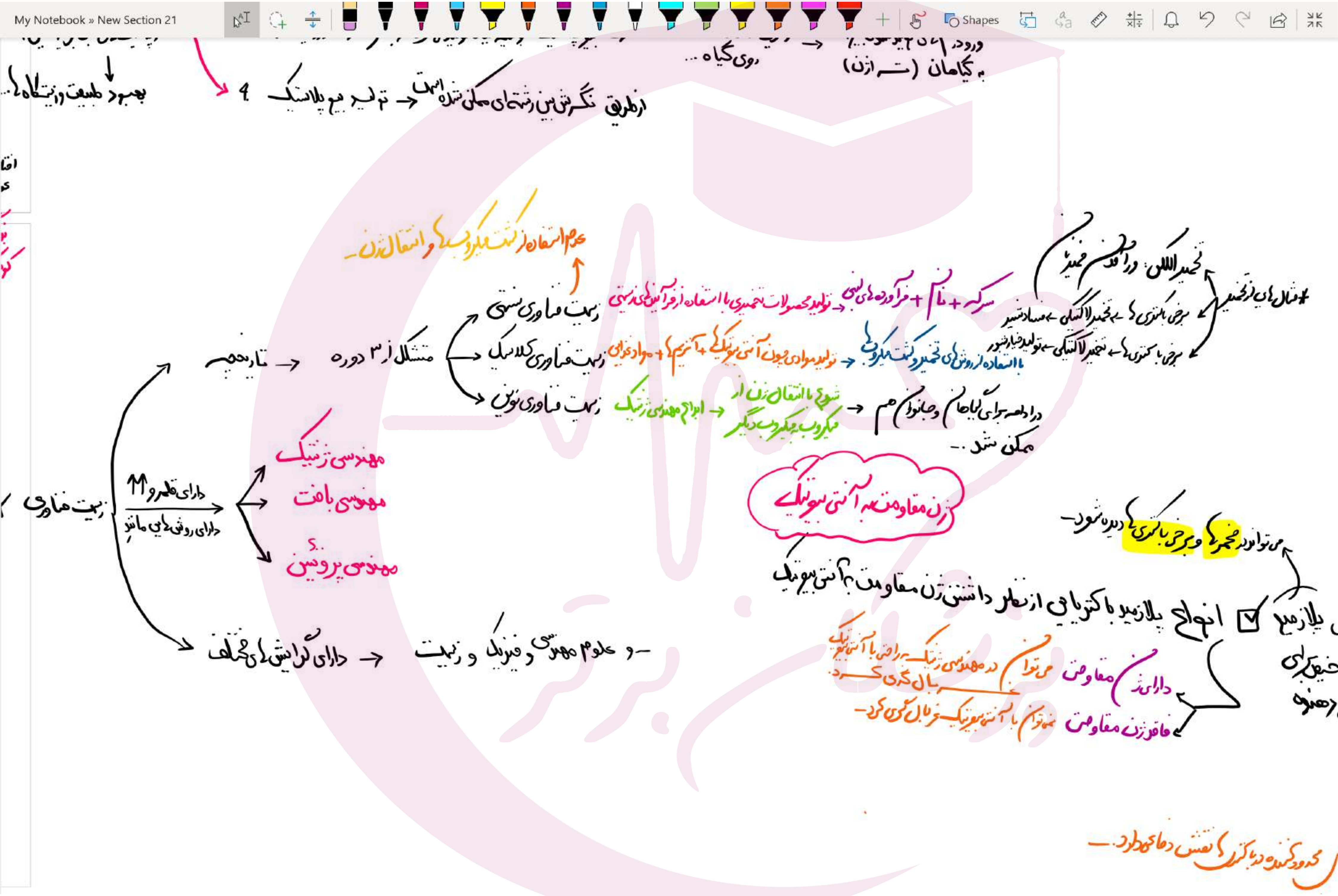
زیست فناوری → دارای قلمرو ۳ / دارای روش‌هایی مانند → مهندسی ژنتیک، مهندسی بافت، مهندسی پروتئین

و علوم مهندسی، فیزیک، ...

---

[1] Biotechnology

[2] Genetic engineering



بهبود طبیعت و زیستگاه‌ها...

از طریق نگرش بین رشته‌ای ممکن شده است ← تولید بیو پلاستیک 4

روی گیاه ...

ورود ژن‌ها ...

به گیاهان (ـــ ازن)

زیست فناوری

دارای قلمرو و ۲۲ / دارای روش‌های خاص ← مهندسی ژنتیک / مهندسی بافت / مهندسی پروتئین

تاریخچه ← متشکل از ۳ دوره

زیست فناوری سنتی ← تولید محصولات تخمیری با استفاده از فرآیندهای زیستی ← سرکه + نان + فرآورده‌های لبنی

عدم استفاده از کشت میکروب‌ها و انتقال ژن.

زیست فناوری کلاسیک ← تولید موادی چون آنتی‌بیوتیک‌ها + آنزیم‌ها + مواد غذایی ← با استفاده از روش‌های تخمیر و کشت میکروب‌ها

زیست فناوری نوین ← ابداع مهندسی ژنتیک ← شروع با انتقال ژن از میکروب به میکروب دیگر ← در ادامه برای گیاهان و جانوران هم ممکن شد.

*مثال‌های از تخمیر

تخمیر الکلی: در افزایش حجم نان

برخی باکتری‌ها ← تخمیر لاکتیکی ← فساد شیر

برخی باکتری‌ها ← تخمیر لاکتیکی ← تولید خیارشور

دارای گرایش‌های مختلف ← زیست و فیزیک و علوم مهندسی و...

ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک

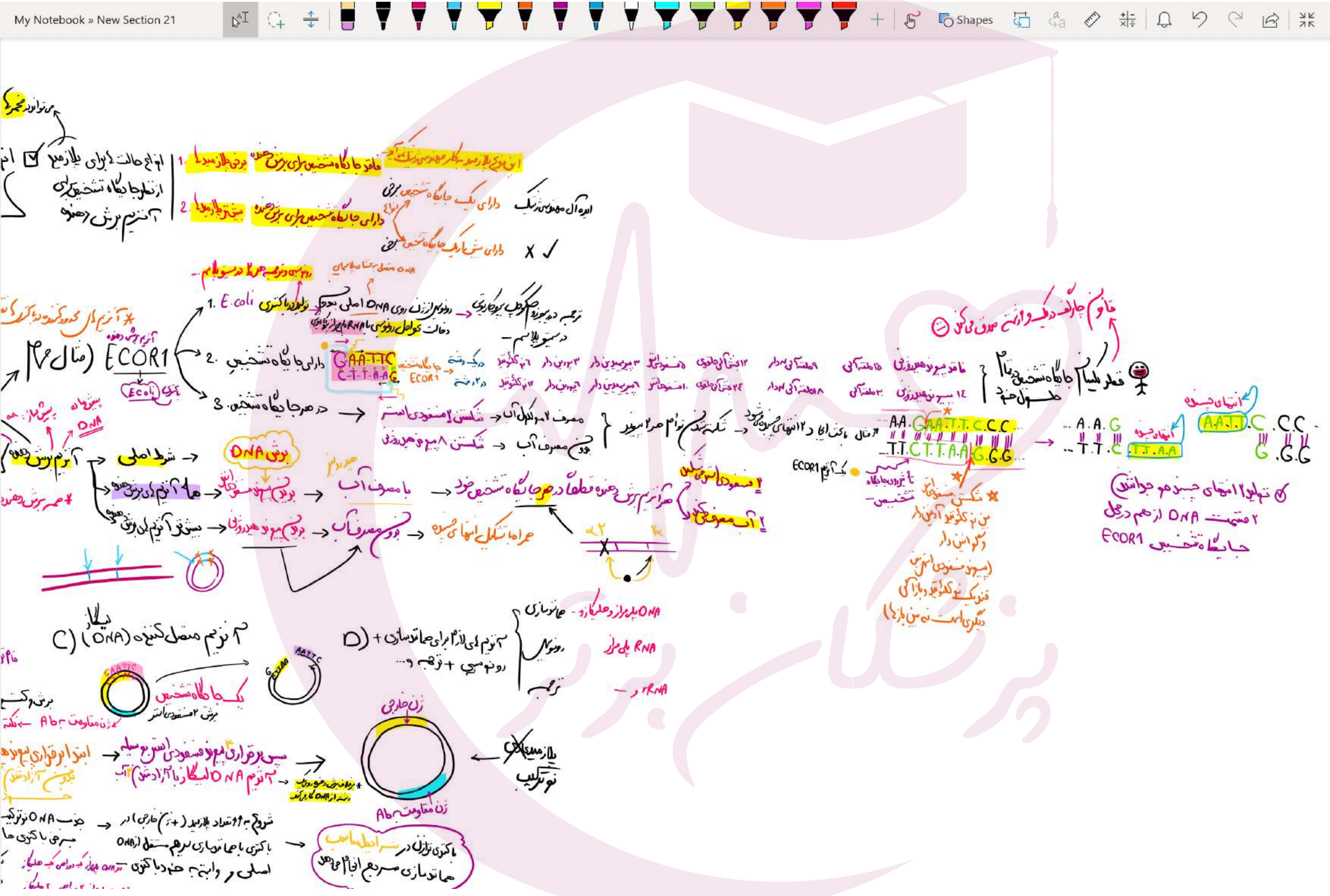
☑ انواع پلازمید باکتری‌ها از نظر داشتن ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک

پلازمید می‌تواند در مخمرها و برخی باکتری‌ها دیده شود.

دارای ژن مقاوم ← می‌توان در مهندسی ژنتیک به راحتی با آنتی‌بیوتیک غربال‌گری کرد.

فاقد ژن مقاوم ← نمی‌توان با آنتی‌بیوتیک غربال‌گری کرد.

محدودکننده در باکتری‌ها نقش دفاعی دارد.



می توانند مجموعه

انواع حالت ها برای پلازمید ☑ از نظر جایگاه تشخیص برای آنزیم برش دهنده

1. برخی پلازمیدها فاقد جایگاه تشخیص برای برش دهنده — این نوع پلازمید به کار مهندسی ژنتیک نمی آید

2. بیشتر پلازمیدها دارای جایگاه تشخیص برای برش دهنده — انواع:
- دارای یک جایگاه تشخیص برش — ایده آل مهندسی ژنتیک ✓
- دارای بیش از یک جایگاه تشخیص برش ✗

* آنزیم های محدودکننده در باکتری ها

آنزیم برش دهنده

مثال مهم) ECOR1 — باکتری E.coli

1. E.coli تولید در باکتری → رونویسی از ژن روی DNA اصلی بدون ... → ترجمه در ریبوزوم کوچک پروکاریوتی در سیتوپلاسم —
- رونویسی و ترجمه هر دو در سیتوپلاسم —
- DNA متصل به غشای پلاسمایی
- در حالت عوامل رونویسی با RNA پلیمراز پروکاریوتی

2. دارای جایگاه تشخیص G-A-A-T-T-C / C-T-T-A-A-G → جایگاه تشخیص ECOR1
- در یک رشته: ۶ نوکلئوتید، ۳ پورین دار، ۳ پیریمیدین دار، ۵ فسفودی استر، ۱۲ بخش آلی حلقوی، ۹ حلقه آلی N دار، ۱۵ حلقه آلی، فاقد پیوند هیدروژنی
- در ۲ رشته: ۱۲ نوکلئوتید، ۶ پورین دار، ۶ پیریمیدین دار، ۱۰ فسفودی استر، ۲۴ بخش آلی حلقوی، ۱۸ حلقه آلی N دار، ۳۰ حلقه آلی، ۱۴ پیوند هیدروژنی

} قطر یکسان جایگاه تشخیص در تمام طول خود → قانون چارگاف در کل واریته صدق می کند ☺

3. در هر جایگاه تشخیص →
- مصرف ۲ مولکول آب → شکستن ۲ فسفودی استر
- بدون مصرف آب → شکستن ۸ پیوند هیدروژنی

} توأم هر ۲ مورد → شکسته شدن → ۲ انتهای چسبنده ایجاد می شود

مثال: ماکت اینجا

A.A.GAATTC.C.C
T.T.CTTAAG.G.G
→ A.A.G / T.T.CTTAA — AATTC.C.C / G.G.G

انتهای چسبنده — انتهای چسبنده

یک آنزیم ECOR1 ● تأثیر روی جایگاه تشخیص

★ شکستن فسفودی استر بین نوکلئوتید آدنین دار و گوانین دار (پیوند فسفودی استر بین یک نوکلئوتید با باز آلی دیگری است نه بین بازها!)

☑ تولید ۲ انتهای چسبنده هم جوانب — ۲ قسمت DNA از هم در محل جایگاه تشخیص ECOR1

آنزیم برش دهنده →
- شرط اصلی → برش DNA
- همه آنزیم های برش دهنده → بریدن پیوند فسفودی استر → با مصرف آب (هیدرولیز) → هر آنزیم برش دهنده قطعاً در هر جایگاه تشخیص خود → ۲ فسفودی استر می شکند؛ ۲ آب مصرف می کند
- بیشتر آنزیم های برش دهنده → بریدن پیوند هیدروژنی → بدون مصرف آب → همراه با تشکیل انتهای چسبنده

پیش ساز — پیش ماده DNA

* همه برش دهنده

C) آنزیم متصل کننده (DNA) لیگاز

یک جایگاه تشخیص — برش ۲ فسفودی استر

ژن مقاومت به Ab ← نکته

برش و کت

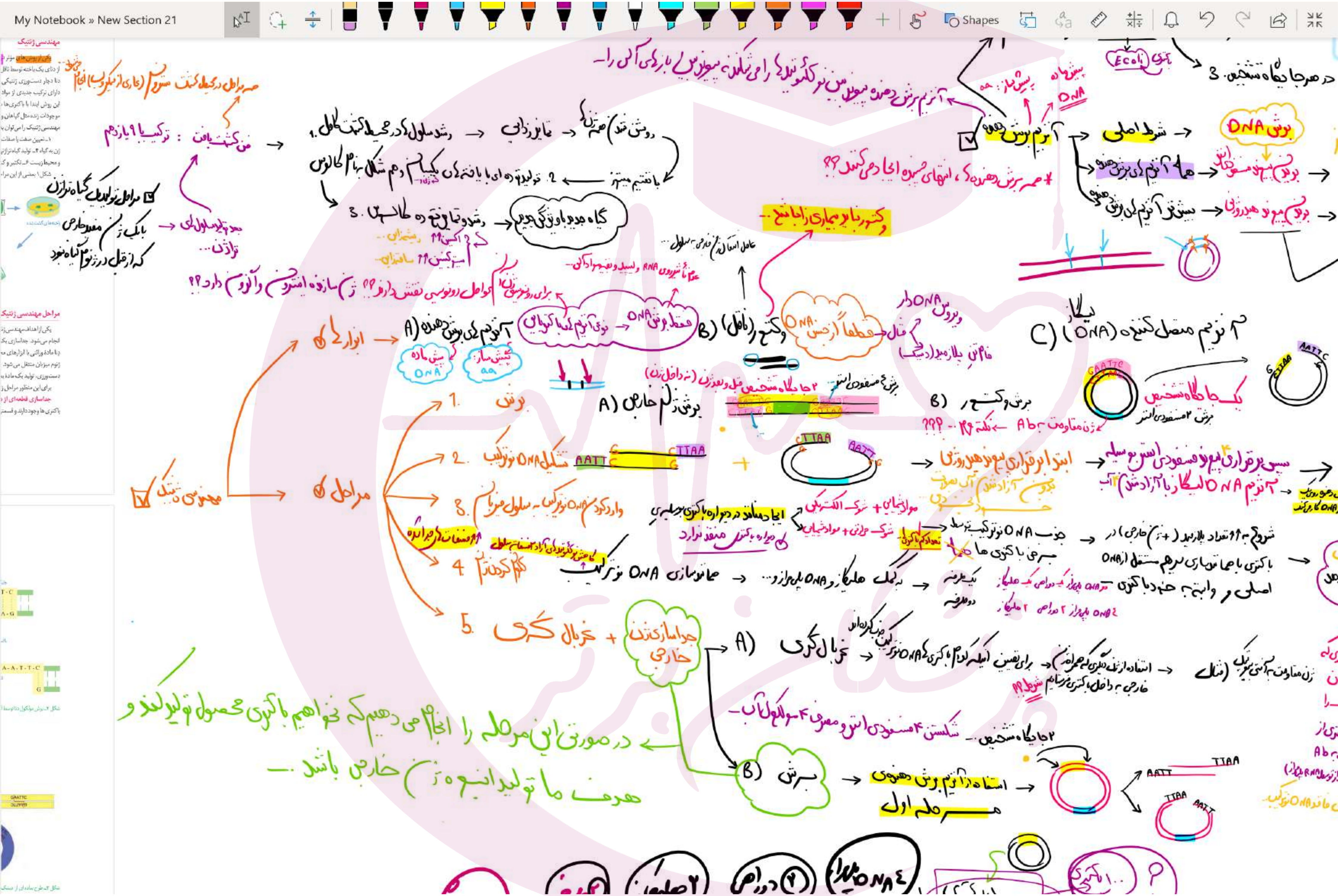
ابتدا برقراری پیوندهای هیدروژنی بدون آزاد شدن آب → سپس برقراری ۴ پیوند فسفودی استر بوسیله آنزیم DNA لیگاز با آزاد شدن ۴ آب → * برخلاف برش دهنده روی یک رشته از DNA کار می کند

پلازمید نوترکیب → ژن خارجی — ژن مقاومت به Ab

جوش DNA نوترکیب درون باکتری ها → شروع به افزایش تعداد پلازمید (+ ژن خارجی) در باکتری با همانندسازی مستقل از DNA اصلی و وابسته به خود باکتری → باکتری توانایی در شرایط مناسب همانندسازی سریع انجام می دهد

در DNA پلیمراز یک دوراهی یک هلیکاز

D) آنزیم های لازم برای همانندسازی + رونویسی + ترجمه و ...
- همانندسازی - DNA پلیمراز و هلیکاز
- رونویسی - RNA پلی مراز
- ترجمه - rRNA و —



مهندسی ژنتیک

یکی از روش های مؤثر
از دنای یک یاخته توسط ناقل
دنا دچار دست‌ورزی ژنتیکی
دارای ترکیب جدیدی از مواد
این روش ابتدا با باکتری‌ها
موجودات زنده مثل گیاهان و
مهندسی ژنتیک را می‌توان
۱ـ تعیین صفت یا صفات
ژن به گیاه ۴ـ تولید گیاه تراژن
و محیط زیست ۶ـ تکثیر و
شکل ۱ بعضی از این مرا

یاخته‌های کشت شده

مراحل مهندسی ژنتیک

یکی از اهداف مهندسی ژ
انجام می‌شود. جداسازی یک
دنا ماده وراثتی با ابزارهای
ژنوم میزبان منتقل می‌شود.
دست‌ورزی، تولید یک ماده
برای این منظور مراحل
جداسازی قطعه‌ای از
باکتری‌ها وجود دارند و قسمت

شکل ۲ـ برش مولکول دنا توسط

شکل ۳ـ طرح ساده‌ای از

همه مراحل در محیط کشت سترون (عاری از میکروب) انجام شوند

فن کشت بافت : ترکیب با ۹ یازدهم →

۱. رشد سلول‌ها در محیط کشت کامل → تمایز زدایی → (دوش قند) همه ژن‌ها

با تقسیم میتوز ← ۲. تولید توده ای با یاخته‌های یکسان و هم شکل به نام کالوس (همه ژن‌ها)

۳. رشد و تمایز توده در خاک ← گیاه جدید با ویژگی جدید

کم؟ اکسین؟؟ ریشه‌زایی
سیتوکینین؟؟ ساقه‌زایی

☑ مراحل تولید گیاه تراژن

با یک ژن مفید خارجی که از قبل در ژنوم گیاه نبود → بعد تولید سلول‌های تراژن...

ژن سازنده استروژن و آلوتوم دارد؟؟ ژن نقش دارد؟؟ عوامل رونویسی برای رونویسی ژن

آنزیم برش دهنده سولوس نوکلئوتیدی را می‌شکند سولوس بازهای آلی را

☑ آنزیم برش دهنده → پیش‌ماده DNA، پیش‌ساز aa

* همه برش دهنده‌ها، انتهای چسبنده ایجاد می‌کنند؟؟

آنزیم برش دهنده → شرط اصلی → برش DNA
→ همه آنزیم‌های برش دهنده → برش پیوند فسفودی‌استر →
→ بیشتر آنزیم‌های برش دهنده → برش پیوند هیدروژنی →

در هر جایگاه تشخیص 3. باکتری E.coli

وکتور باید بیماری زا باشد

عامل انتقال ژن خارجی به سلول

عدم تأثیر روی RNA و لیپید و نقص مواد آلی

☑ مهندسی ژنتیک

☑ ابزارها → A) آنزیم‌های برش دهنده (پیش‌ماده DNA، پیش‌ساز aa) → نوعی آنزیم‌های باکتریایی → فقط برش DNA

B) وکتور (ناقل) → DNA (قطعاً از جنس DNA) → مثال → ویروس DNA دار، فاژ، پلازمید (دیسک)

C) آنزیم متصل کننده (DNA) لیگاز

☑ مراحل

1. برش

A) برش ژن خارجی
(نه داخل ژن) ۲ جایگاه تشخیص قبل و بعد ژن
برش ۴ فسفودی‌استر

B) برش وکتور
یک جایگاه تشخیص
برش ۲ فسفودی‌استر
ژن مقاومت به Ab ← نکته؟؟ - ؟؟؟

2. تشکیل DNA نوترکیب
AATT C G CTTAA + CTTAA AATT G C
→ ابتدا برقراری پیوند هیدروژنی (بدون آزاد شدن آب به صورت خود به خودی) → سپس برقراری ۴ پیوند فسفودی‌استر بوسیله آنزیم DNA لیگاز با آزاد شدن ۴ آب →

3. وارد کردن DNA نوترکیب به سلول میزبان
ایجاد منافذ در دیواره باکتری بوسیله ی
← مواد شیمیایی + شوک الکتریکی
← شوک حرارتی + مواد شیمیایی
دیواره باکتری منفذ ندارد
جذب DNA نوترکیب توسط تعداد کمی از باکتری‌ها ← برخی باکتری‌ها → شروع به افزایش تعداد پلازمید (+ ژن خارجی) در باکتری با همانندسازی مستقل از DNA اصلی و وابسته به DNA باکتری

؟؟ منفعات دیواره

4. کلون کردن ← کاهش پیوند نوکلئوتیدهای آزاد + افزایش سلول
همانندسازی DNA نوترکیب → به کمک هلیکاز و DNA پلیمراز و... → یک طرفه: در DNA پلیمراز ۱ دو راهی یک هلیکاز / دو طرفه: ۲ DNA پلیمراز ۲ دو راهی ۲ هلیکاز

5. غربال گری + جداسازی ژن خارجی

A) غربال گری → باکتری‌هایی که DNA نوترکیب را جذب کرده‌اند → برای تعیین اینکه کدام باکتری‌ها DNA نوترکیب (همراه ژن) → استفاده از ژن دیگری که همراه ژن خارجی به داخل باکتری بر سانیم شرط؟؟ → مثال (ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک)

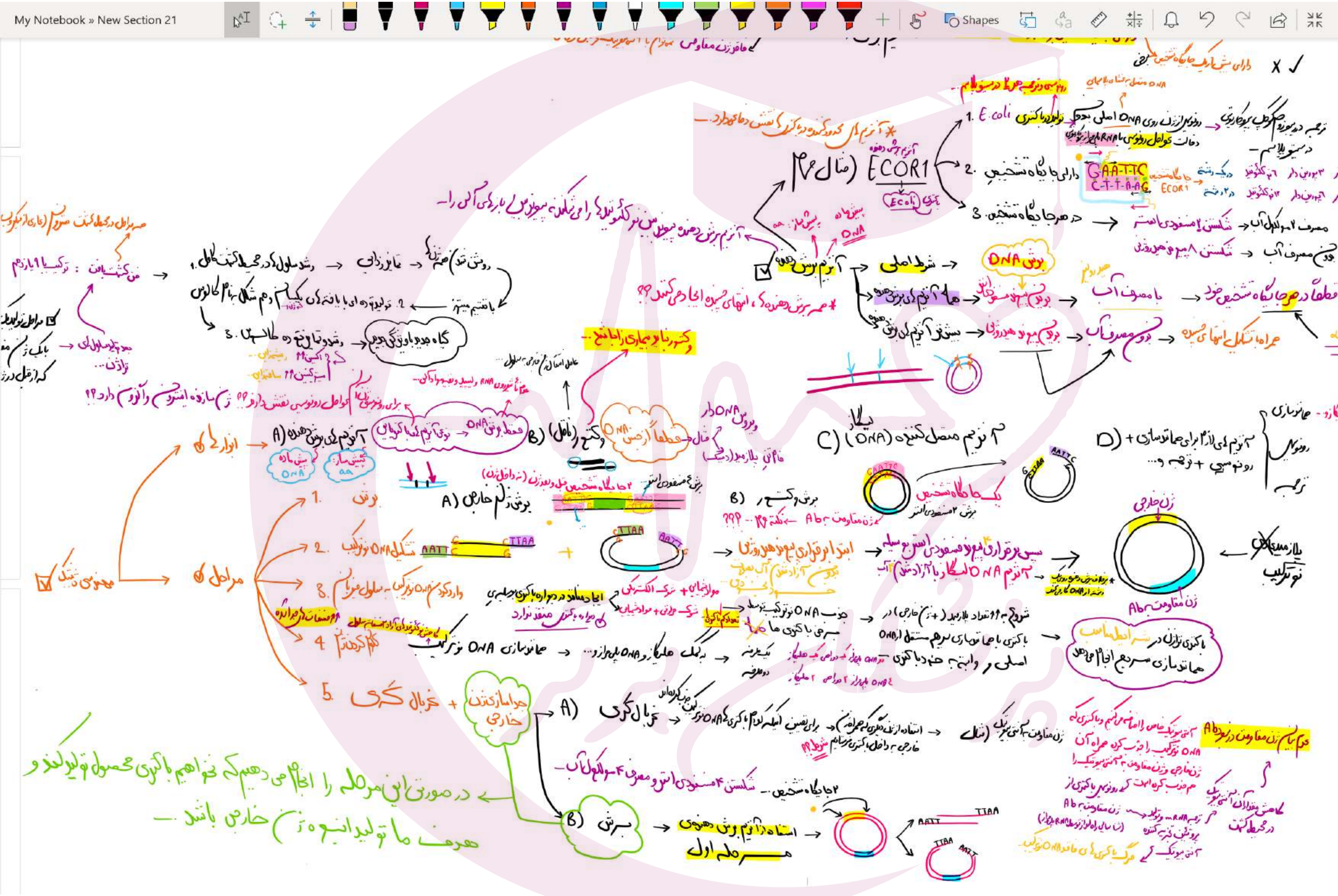
B) برش → استفاده از آنزیم برش دهنده مرحله اول → ۲ جایگاه تشخیص - شکستن ۴ فسفودی‌استر و مصرف ۴ مولکول آب -
AATT TTAA
TTAA AATT

در صورتی این مرحله را انجام می‌دهیم که نخواهیم باکتری محصول تولید کند و هدف ما تولید انبوه ژن خارجی باشد.

DNA نوترکیب

Ab
(توسط RNA پلیمراز)
باکتری از

۲ دو راهی ۲ هلیکاز ۴ DNA پلیمراز



ژن مقاومت

دارای بیش از یک جایگاه تشخیص برش ✗ ✓

ترجمه در ریبوزوم ← کمک به پروکاریوتی در سیتوپلاسم —
رونویسی ژن روی DNA اصلی به کمک ← تولید در باکتری
DNA متصل به غشاء پلاسمایی
عوامل رونویسی با mRNA پلیمراز پروکاریوتی
رونویسی و ترجمه هر دو در سیتوپلاسم —

* آنزیم های محدودکننده در باکتری ها نقش دفاعی دارد —

مثال ۲) ECOR1 ← آنزیم برش دهنده ← باکتری E.coli
1. E. coli تولید در باکتری
2. دارای جایگاه تشخیص GAATTC / CTTAAG ← جایگاه تشخیص ECOR1
در یک رشته ← ۶ نوکلئوتید ← ۳ پورین دار
در ۲ رشته ← ۱۲ نوکلئوتید ← ۶ پورین دار
3. در هر جایگاه تشخیص → شکستن ۲ پیوند فسفودی استر ← مصرف ۲ مولکول آب
شکستن ۸ پیوند هیدروژنی ← بدون مصرف آب

آنزیم برش دهنده پیوند بین نوکلئوتیدها را می شکند، پیوند بین بازهای آلی را —

☑ آنزیم برش دهنده → شرط اصلی → برش DNA
پیش ساز: ۵۵
پیش ماده DNA
همه آنزیم های برش دهنده → پیوند فسفودی استر → با مصرف آب (هیدرولیز) → قطعاً در هر جایگاه تشخیص خود
بیشتر آنزیم های برش دهنده → پیوند هیدروژنی → بدون مصرف آب → همراه با تشکیل انتهای چسبنده

* همه برش دهنده ها، انتهای چسبنده ایجاد می کنند ؟؟

همه مراحل در محیط کشت استریل (عاری از میکروب)
کشت بافت : ترکیبی با ۹ یا ازدهم
☑ مراحل تولید
بانک ژن
که از قبل در
جدا کردن سلول ها
تراژن ...

1. رشد سلول ها در محیط کشت کامل → تمایز زدایی → روشن شدن همه ژن ها
با تقسیم میتوز → 2. تولید توده ای با یاخته های یکسان (کلون) در هم شکل به نام کالوس
3. رشد و تمایز توده در طالبها → گیاه جدید با ویژگی جدید
اکسین ؟؟ ریشه زایی --
سیتوکینین ؟؟ ساقه زایی

برای رونویسی ژن ها عوامل رونویسی نقش دارد ؟؟ ژن سازنده استروژن و آنزیم دارد ؟؟

وکتورها بیماری زا [illegible] --
عامل انتقال ژن خارجی به سلول
عدم تأثیر روی RNA و لیپید و نوکلئوتیدها ...

☑ مهندسی ژنتیک → ابزارها → A) آنزیم های برش دهنده (نوعی آنزیم محدودکننده → فقط برش DNA)
پیش ماده DNA
پیش ساز ۵۵

B) ناقل (وکتور) → قطعاً از جنس DNA ← مثال ← ویروس DNA دار / فام تن پلازمید (دیسک)

C) آنزیم متصل کننده (DNA) لیگاز
یک جایگاه تشخیص
برش ۲ فسفودی استر

D) آنزیم های لازم برای همانندسازی + رونویسی + ترجمه و...
همانندسازی
رونویسی
ترجمه

مراحل → 1. برش → A) برش ژن خارجی
۲ جایگاه تشخیص قبل و بعد ژن (نه داخل ژن)
برش ۴ فسفودی استر
B) برش وکتور
ژن مقاومت به Ab ← نکته ۴۹ -- ؟؟؟

2. تشکیل DNA نوترکیب → ابتدا برقراری پیوند هیدروژنی (بدون آزاد شدن آب) → سپس برقراری ۴ پیوند فسفودی استر به وسیله آنزیم DNA لیگاز با آزاد شدن ۴ آب
* برخلاف برش دهنده روی یک رشته از DNA کار می کند
پلازمید نوترکیب
ژن خارجی
ژن مقاومت به Ab

3. وارد کردن DNA نوترکیب به سلول میزبان → ایجاد منافذ در دیواره باکتری به وسیله ی: مواد شیمیایی + شوک الکتریکی / شوک حرارتی + مواد شیمیایی
دیواره باکتری منفذ ندارد
→ جذب DNA نوترکیب توسط تعداد کمی از باکتری ها (نه همه) → شروع به ؟؟ تعداد پلازمید (+ ژن خارجی) در برخی باکتری ها
باکتری با همانندسازی سریع مستقل از DNA اصلی و وابسته به خود باکتری → باکتری تراژن در شرایط مناسب همانندسازی سریع انجام می دهد

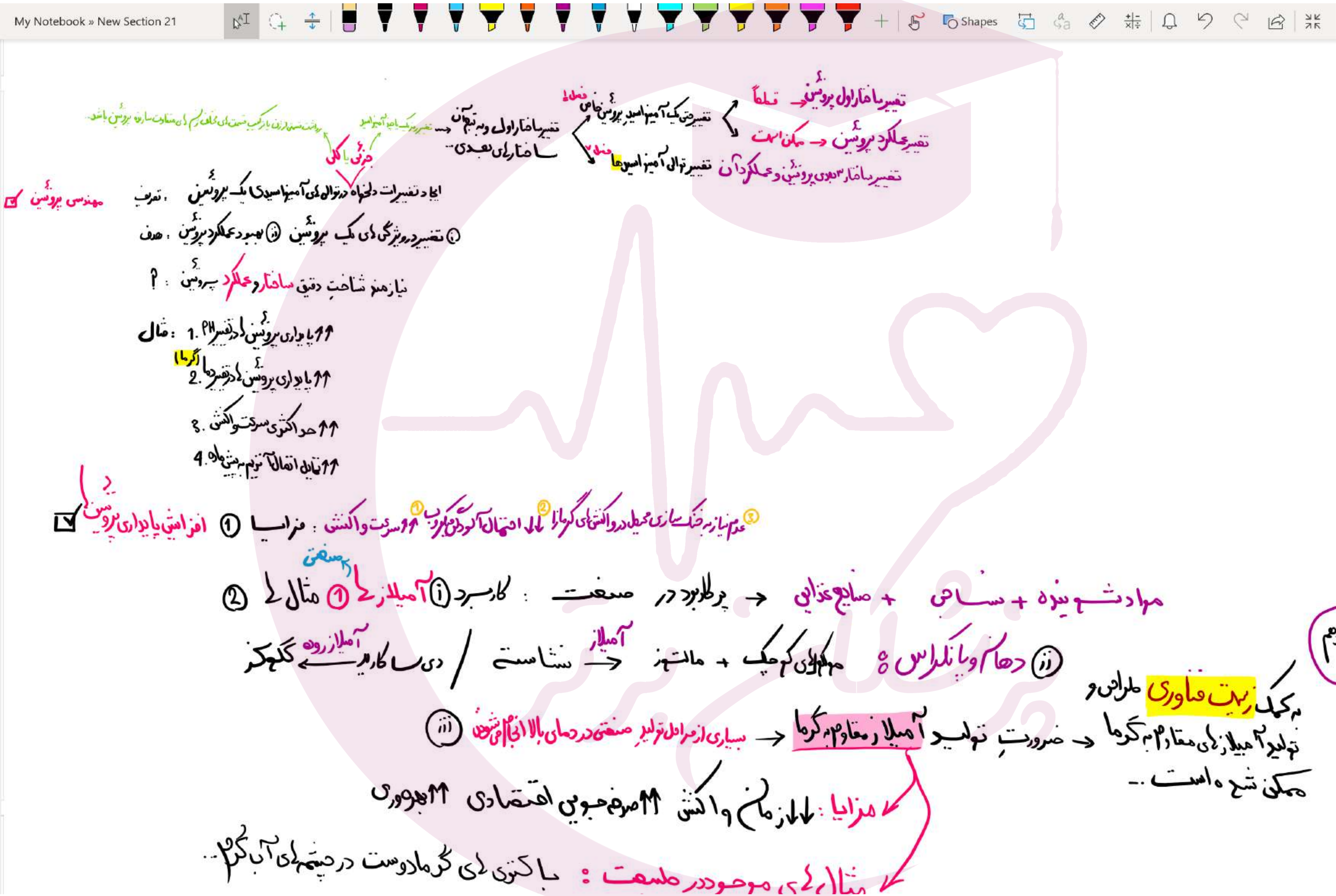
4. کلون کردن ژن
۳ تقسیمات در جداره
کاهش و کلون های آزاد تقسیمات سلول
همانندسازی DNA نوترکیب → به کمک هلیکاز و DNA پلیمراز ... → یک طرفه / دوطرفه
دو DNA پلیمراز یک دو راهی یک هلیکاز
۲ DNA پلیمراز ۲ دو راهی ۲ هلیکاز

5. غربال گری + جداسازی ژن خارجی → A) غربال گری → DNA نوترکیب کسب کرده اند → برای تعیین اینکه کدام باکتری DNA نوترکیب → استفاده از ژن دیگری که همراه ژن خارجی به داخل باکتری میرسانیم شرط ؟؟ → مثال) ژن مقاومت به آنتی بیوتیک

آنتی بیوتیک خاص را اضافه میکنیم و باکتری که DNA نوترکیب را جذب کرده همراه آن ژن خارجی و ژن مقاومت به آنتی بیوتیک را هم جذب کرده است که رونویسی باکتری از ژن مقاومت به Ab و تولید mRNA ← ترجمه mRNA (از سال راه اندازی توسط RNA پلیمراز) پروتئین تجزیه کننده آنتی بیوتیک ← مرگ باکتری های فاقد DNA نوترکیب
عدم بیان ژن مقاومت در نبود Ab
کاهش مقدار آنتی بیوتیک در محیط کشت

B) برش → استفاده از آنزیم برش دهنده مرحله اول →
۲ جایگاه تشخیص — شکستن ۴ فسفودی استر و مصرف ۴ مولکول آب —

در صورتی این مرحله را انجام می دهیم که نخواهیم باکتری محصول تولید کند و هدف ما تولید انبوه ژن خارجی باشد —



تغییر ساختار اول و به تبع آن ساختارهای بعدی... ← تغییر جزئی یک یا چند آمینواسید / برداشتن قسمتی از آن یا ترکیب قسمت‌های مختلف آنزیم‌های متفاوت ساختاری پروتئین باشد.

جزئی یا کلی

تغییر حتی یک آمینواسید پروتئین خاص (فصل ۱)
- تغییر ساختار اول پروتئین → قطعاً
- تغییر عملکرد پروتئین → ممکن است

تغییر توالی آمینواسیدها (فصل ۷) تغییر ساختار ۳ بعدی پروتئین و عملکرد آن

مهندسی پروتئین ☑

تعریف: ایجاد تغییرات دلخواه در توالی‌های آمینواسیدی یک پروتئین

هدف: (i) تغییر در ویژگی‌های یک پروتئین (ii) بهبود عملکرد پروتئین

؟: نیازمند شناخت دقیق ساختار و عملکرد پروتئین

مثال:
1. ↑↑ پایداری پروتئین‌ها در تغییر PH
2. ↑↑ پایداری پروتئین‌ها در تغییر دما (گرما)
3. ↑↑ حداکثر سرعت واکنش
4. ↑↑ تمایل اتصال آنزیم به پیش‌ماده

☑ افزایش پایداری پروتئین‌ها ① مزایا: ① ↑↑ سرعت واکنش ② ↓↓ احتمال آلودگی میکروبی ③ عدم نیاز به خنک‌سازی محیط در واکنش‌های گرمازا

② مثال‌ها ① آمیلازها ← صنعتی

(i) آمیلاز: کاربرد: پرکاربرد در صنعت → صنایع غذایی + نساجی + مواد شوینده

(ii) دهان و پانکراس: مولکول‌های کوچک + مالتوز ←آمیلاز نشاسته / دی‌ساکارید ←آمیلاز روده گلوکز

(iii) بسیاری از مراحل تولید صنعتی در دمای بالا انجام می‌شوند → ضرورت تولید آمیلاز مقاوم به گرما → تولید آمیلازهای مقاوم به گرما به کمک زیست فناوری طراحی و ممکن شده است...

مزایا: ↓↓ زمان واکنش ↑↑ صرفه‌جویی اقتصادی ↑↑ بهره‌وری

مثال‌های موجود در طبیعت: باکتری‌های گرمادوست در چشمه‌های آب گرم...

4. ↑↑ تمایل اتصال آنزیم به پیش‌ماده

☑ افزایش پایداری پروتئین‌ها ① مزایا : ① ↑↑ سرعت واکنش ② ↓↓ احتمال آلودگی میکروبی ③ عدم نیاز به خنک‌سازی محیط در واکنش‌های گرمازا

② مثال‌ها ① آمیلازها (صنعتی) ⓘ کاربرد : پرکاربرد در صنعت → صنایع غذایی + نساجی + مواد شوینده

ⓘⓘ دهان و پانکراس : نشاسته →(آمیلاز) مولکول‌های کوچک + مالتوز / دی‌ساکاریدها →(آمیلاز روده) گلوکز

ⓘⓘⓘ بسیاری از مراحل تولید صنعتی در دمای بالا انجام می‌شوند → ضرورت تولید آمیلاز مقاوم به گرما → تولید آمیلازهای مقاوم به گرما به کمک زیست فناوری طراحی و ممکن شده است.

مزایا : ↓↓ زمان واکنش ↑↑ صرفه‌جویی اقتصادی ↑↑ بهره‌وری

مثال‌های موجود در طبیعت : باکتری‌های گرمادوست در چشمه‌های آب گرم.

نکته ترکیبی گیاهی یازدهم → رویان غلات → تولید جیبرلین → تأثیر روی خارجی‌ترین لایه اندوسپرم (لایه گلوتن‌دار) → تولید و رهاسازی آنزیم‌های گوارشی در دانه → تجزیه دیواره یاخته‌ها و ذخایر اندوسپرم → مثال) نشاسته →(آمیلاز) هیدرولیز

② اینترفرون (داروی...) ⓘ کاربرد → یکی از پروتئین‌های سیستم ایمنی → خط دوم...؟ / خط سوم...؟

ⓘⓘ اینترفرون ساخته شده در مهندسی ژنتیک → کاربرد کم‌تر نسبت به IF طبیعی → علت : تشکیل پیوندهای نادرست حین ساخته شدن آن در باکتری. → تغییر شکل پروتئین و کاهش عملکرد آن.

ⓘⓘⓘ به‌وسیله مهندسی پروتئین... تغییر در ~~یک جفت~~ یک آمینواسید در ژن سازنده IF → IF ساخته شده در حد IF طبیعی...

1. ↑↑ کارایی
2. ↑↑ پایداری IF ساخته شده.

→ ↑↑ پایداری در نگهداری پروتئین‌های دارویی نقش به سزایی دارد

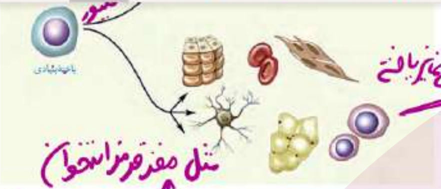
تغییرات ساختاری پروتئین ؟؟

میزان مهندسی پروتئین در پلاسمین و اینترفرون ← جزئی یا کلی

③ پلاسمین (داروی...) ⓘ کاربرد → در بدن نقش طبیعی تجزیه لخته‌های خون به شکل طبیعی → عدم تخریب لخته‌ها باعث بسته شدن رگ‌های شش، سکته قلبی و مغزی می‌شود.

لخته در شش - لخته در قلب - لخته در مغز

ⓘⓘ پلاسمین جانشینی یک آمینواسید با دیگری در توالی آمینواسیدی پلاسمین → تغییر ساختار اول →
- ↑↑ پایداری پلاسمین
- ↑↑ اثرات درمانی پلاسمین


یاخته بنیادی

سلول‌های زاینده

مثل مغز قرمز استخوان

شکل ۸ـ یاخته‌های بنیادی توانایی تکثیر و به‌وجود آوردن یاخته‌های مشابه خود؛ و نیز توانایی تبدیل شدن به سایر یاخته‌ها را دارند.

انواع

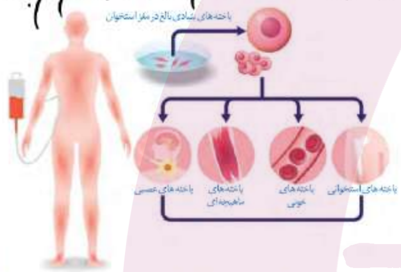
یاخته‌های بنیادی بالغ: در بافت‌های مختلف بدن یاخته‌های بنیادی وجود دارند که در محیط کشت تکثیر می‌شوند. به‌عنوان مثال یاخته‌های بنیادی کبد می‌توانند تکثیر شوند و به یاخته کبدی یا یاخته مجرای صفراوی تمایز پیدا کنند.

با دو نوع از یاخته‌های بنیادی مغز استخوان قبلاً آشنا شده‌اید. آیا آنها را به یاد دارید؟ انواع دیگری از یاخته‌های بنیادی در مغز استخوان وجود دارند که می‌توانند به رگ‌های خونی، ماهیچه اسکلتی و قلبی تمایز پیدا کنند. این یاخته‌ها از فرد بالغ برداشته و کشت داده می‌شوند (شکل ۹).

میلوئیدی لنفوئیدی نیست —

ماهیچه‌ها، استخوان و ...

نوعی یاخته‌های بنیادی بالغ در بدن انسان می‌توانند باعث ساخته شدن جگری شوند که پس‌زدن آن به کمک اختلال سیتوکینز لنفوسیت‌ها می‌شود ص ۵۰ ج ۲


یاخته‌های بنیادی بالغ در مغز استخوان
یاخته‌های عصبی
یاخته‌های ماهیچه‌ای
یاخته‌های خونی
یاخته‌های استخوانی

شکل ۹ـ یاخته‌های بنیادی مغز استخوان به انواع مختلف یاخته‌ها و بافت‌ها تمایز پیدا می‌کنند.

[www.mrzist.org]

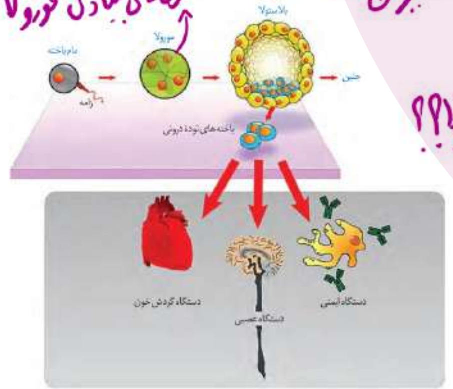
یاخته‌های بنیادی جنینی: چنین یاخته‌هایی نه‌تنها قادر به تشکیل همه بافت‌های بدن جنین هستند، بلکه اگر در مراحل اولیه جنینی جداسازی شوند، می‌توانند یک جنین کامل را تشکیل دهند. این یاخته‌ها بعد از جداسازی کشت داده و برای تشکیل بسیاری از انواع یاخته‌ها تحریک می‌شوند (شکل ۱۰). اما تمایز چنین یاخته‌هایی هنوز نمی‌تواند به‌گونه‌ای تنظیم شود که بتوانند همه انواع یاخته‌هایی را که در بدن جنین تولید می‌کنند در شرایط آزمایشگاهی نیز به‌وجود بیاورند.

← قادر به تشکیل همه بافت‌های جنین ۱.

۲. ـــ تحریک کنند ← تکثیر و تشکیل بسیاری از انواع یاخته‌ها... ← به دلیل عدم تنظیم تمایز این یاخته‌ها

سلول‌های بنیادی مورولا ← تمایز ✓ ← لایه خارجی بلاستوسیست ← حفاظت و تغذیه جنین

← لایه داخلی بلاستوسیست ← تشکیل جنین

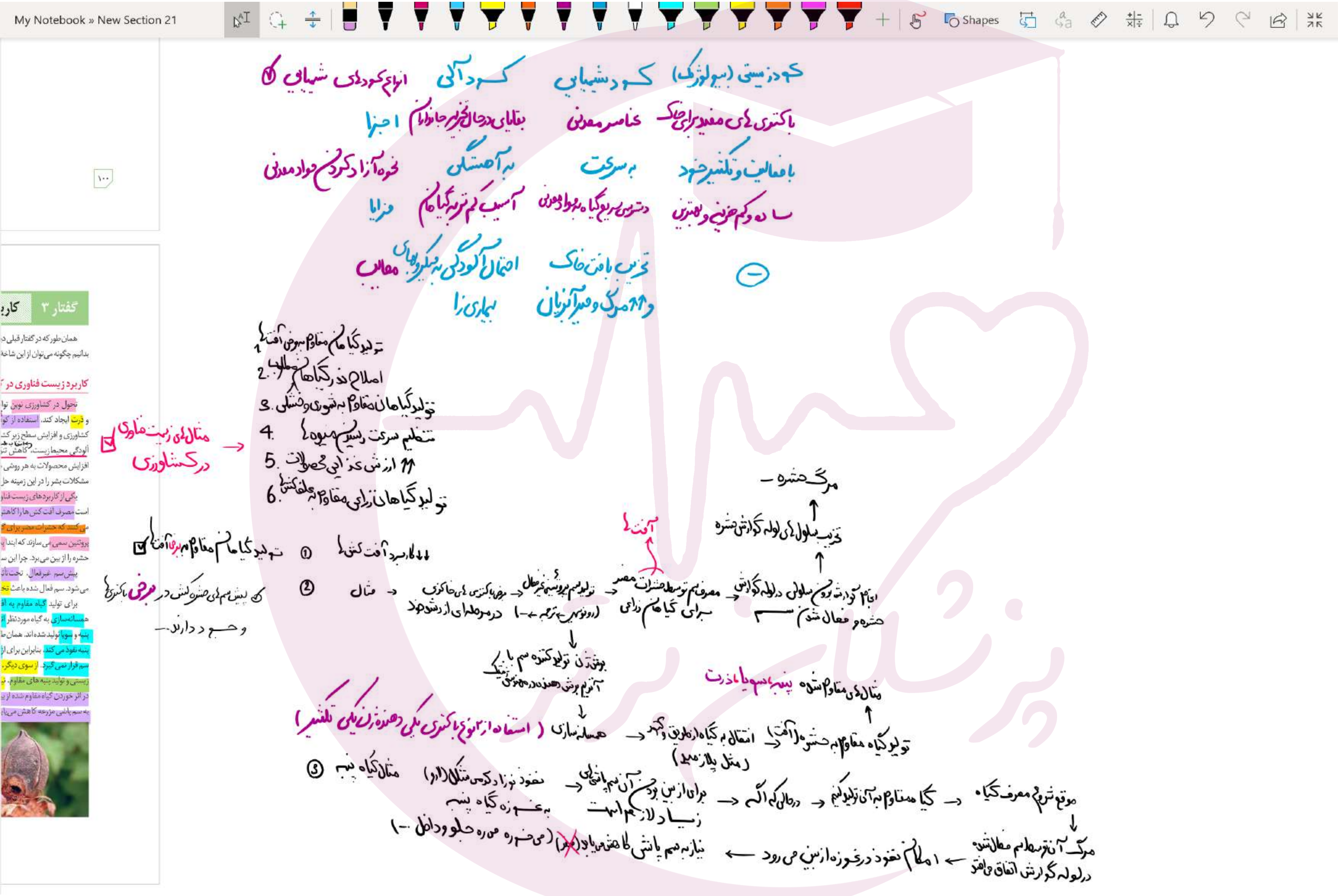

مام یاخته
زامه
مورولا
بلاستولا
جنین
یاخته‌های تودهٔ درونی
دستگاه گردش خون
دستگاه عصبی
دستگاه ایمنی

✓ تمایز سلول بنیادی بلاستوسیست بیش‌تره یا مورولا؟؟!

✓ تشکیل مورولا ← لوله رحمی

✓ تشکیل بلاستوسیست ← رحم

شکل ۱۰ـ الف) یاخته‌های بنیادی مورولا به همه انواع یاخته‌های جنینی و خارج جنینی (جفت و پرده‌ها) متمایز می‌شوند.
ب) یاخته‌های بنیادی توده یاخته‌ای درونی به انواع یاخته‌های بدن جنین متمایز می‌شوند.



انواع کودهای شیمیایی ☑	کود زیستی (بیولوژیک)	کود شیمیایی	کود آلی
اجزا	باکتری‌های مفید برای خاک	عناصر معدنی	بقایای در حال تخریب جانداران
نحوه آزاد کردن مواد معدنی	با فعالیت و تکثیر خود	به سرعت	به آهستگی
مزایا	ساده و کم‌هزینه و بهترین	دسترسی سریع گیاه به مواد معدنی	آسیب کم‌تر به گیاهان
معایب	⊖	تخریب بافت خاک و ↑↑ مرگ و میر آبزیان	احتمال آلودگی به میکروب‌های بیماری‌زا

گفتار ۳ کار

همان‌طور که در گفتار قبلی د
بدانیم چگونه می‌توان از این شاخه

کاربرد زیست فناوری در

تحول در کشاورزی نوین توا
و ذرت ایجاد کند. استفاده از کو
کشاورزی و افزایش سطح زیر کشت
آلودگی محیط زیست، کاهش تنو
افزایش محصولات به هر روشی
مشکلات بشر را در این زمینه حل
یکی از کاربردهای زیست فناو
است مصرف آفت‌کش‌ها را کاهش
می‌کنند که حشرات مضر برای گ
پروتئین سمی می‌سازند که ابتدا
حشره را از بین می‌برد. چرا این س
پیش‌سم غیرفعال، تحت تأ
می‌شود. سم فعال شده باعث تخ
برای تولید گیاه مقاوم به آ
همسانه‌سازی به گیاه موردنظر ا
پنبه و سویا تولید شده‌اند. همان‌ط
پنبه نفوذ می‌کند. بنابراین برای از
سم قرار نمی‌گیرد. از سوی دیگر،
زیستی و تولید پنبه‌های مقاوم. ن
در اثر خوردن گیاه مقاوم شده از ب
به سم‌پاشی مزرعه کاهش می‌یا

☑ مثال‌های زیست‌فناوری در کشاورزی →

1. تولید گیاهان مقاوم به عوامل آفت‌ها
2. اصلاح نژاد گیاهان مطلوب
3. تولید گیاهان مقاوم به شوری و خشکی
4. تنظیم سرعت رسیدن میوه‌ها
5. ↑↑ ارزش غذایی محصولات
6. تولید گیاهان زراعی مقاوم به علف‌کش‌ها

☑ تولید گیاهان مقاوم به برخی آفت‌ها ① ↓↓ کاربرد آفت‌کش‌ها

که پیش‌سم‌های حشره‌کش در مرجع باکتری‌ها
وجود دارند—

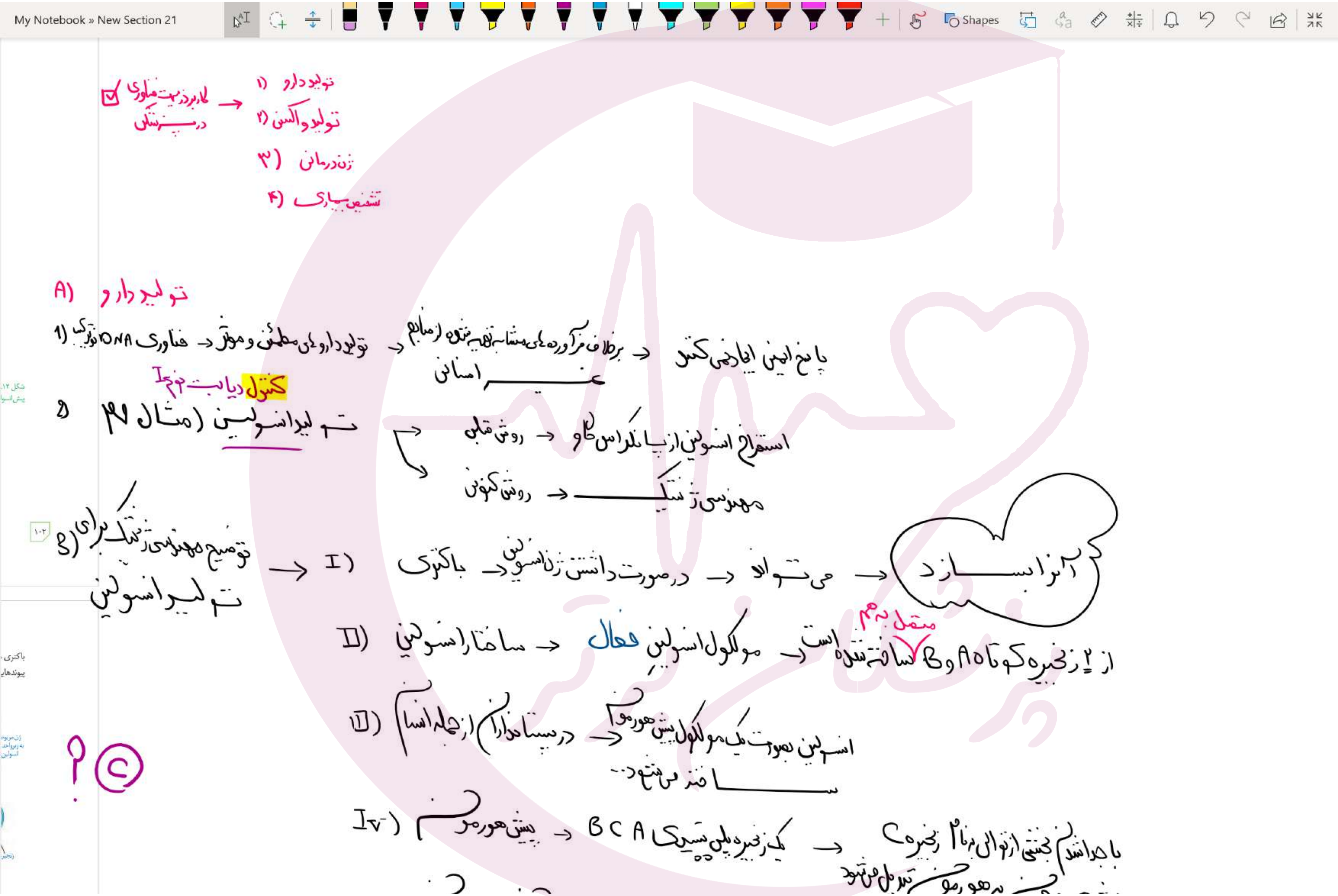
② مثال → باکتری‌های خاکزی در مرحله‌ای از رشد خود → تولید سم پروتئینی غیرفعال (رونویسی → ترجمه → ۱) → مصرف سم توسط حشرات مضر برای گیاهان زراعی → انجام گوارش برون سلولی در لوله گوارش حشره و فعال شدن سم

آفت‌ها

↑ تخریب سلول‌های لوله گوارش حشره ↑ مرگ حشره —

↓ برش زدن تولیدکننده سم با آنزیم برش دهنده در مهندسی ژنتیک ↓ همسانه‌سازی (استفاده از ۲ نوع باکتری یکی دهنده ژن یکی تکثیر) → انتقال به گیاه از طریق وکتور (مثل پلازمید) → تولید گیاه مقاوم به حشره (آفت) ↑ مثال‌های مقاوم شده پنبه، سویا، ذرت

③ مثال گیاه پنبه نفوذ نوزاد کرمی شکل (لارو) به غوزه گیاه پنبه (می‌خوره میوه رو جلو و داخل —) → برای از بین بردن آن سم‌پاشی زیاد لازم است → درحالی‌که اگه → گیاه مقاوم به آن تولید کنیم → موقع شروع مصرف گیاه ↓ مرگ آن توسط سم فعال‌شده در لوله گوارش اتفاق می‌افتد ← امکان نفوذ در غوزه از بین می‌رود ← نیاز به سم‌پاشی کاهش می‌یابد ~~(مهم)~~



☑ کاربرد زیست‌فناوری در پزشکی → ۱) تولید دارو
۲) تولید واکسن
۳) ژن‌درمانی
۴) تشخیص بیماری

A) تولید دارو

۱) فناوری DNA نوترکیب → تولید داروهای مطمئن و موثر → برخلاف فرآورده‌های مشابه تهیه شده از منابع غیرانسانی → پاسخ ایمنی ایجاد نمی‌کنند

کنترل دیابت نوع I
۲) تهیه انسولین (مثال ۴۷ → روش قبلی → استخراج انسولین از پانکراس گاو
→ روش کنونی → مهندسی ژنتیک

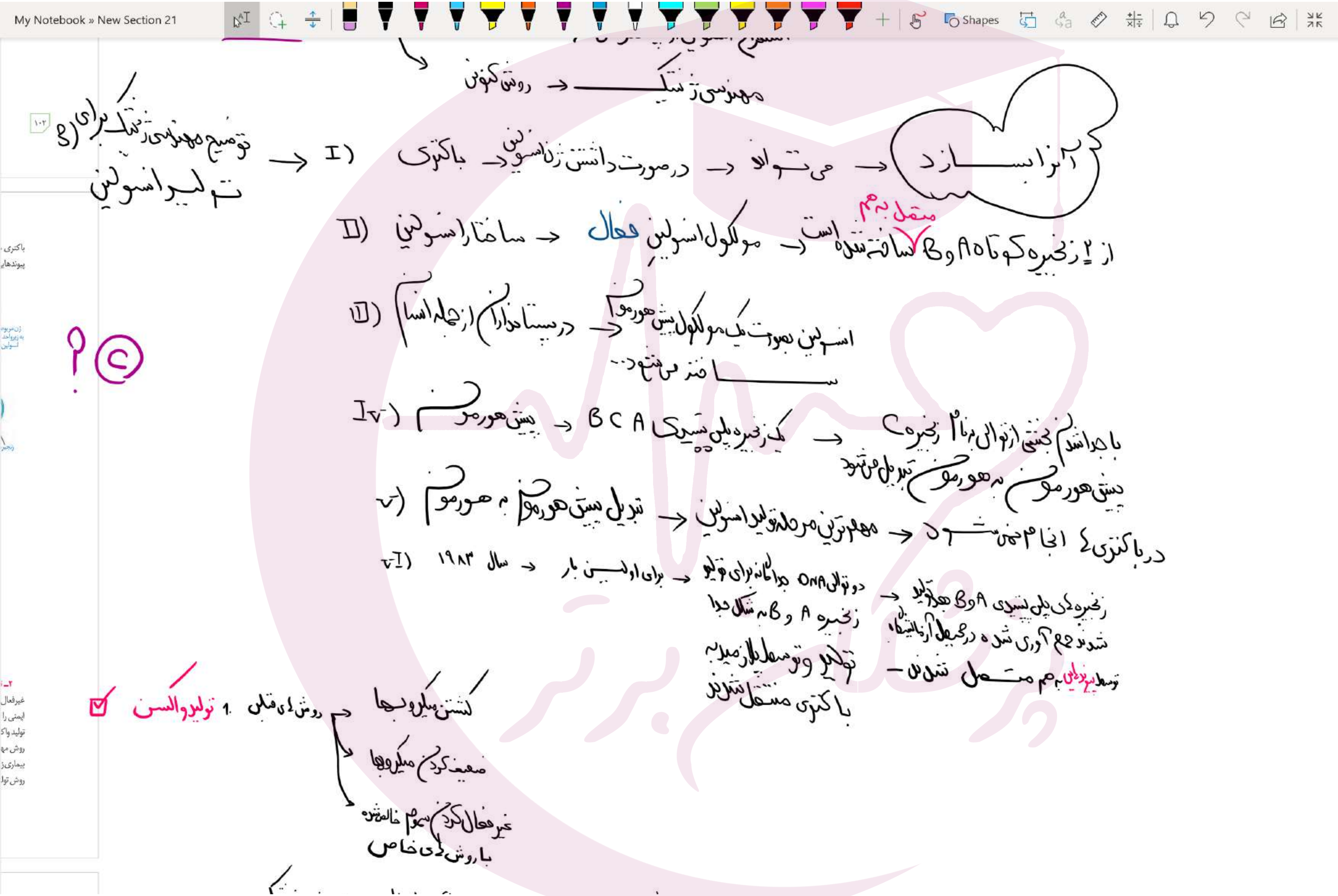
۳) توضیح مهندسی ژنتیک برای تهیه انسولین → I) باکتری → در صورت داشتن ژن انسولین → می‌تواند → آن را بسازد

II) ساختار انسولین → مولکول انسولین فعال → از ۲ زنجیره کوتاه A و B متصل به هم ساخته شده است

III) در پستانداران (از جمله انسان) → انسولین به صورت یک مولکول پیش‌هورمون ساخته می‌شود...

IV) پیش‌هورمون → یک زنجیره پلی‌پپتیدی B C A → با جدا شدن بخشی از توالی به نام C زنجیره به هورمون تبدیل می‌شود

؟ ©



مهندسی ژنتیک ——— → روش کنونی

توضیح مهندسی ژنتیک برای (۳ تولید انسولین → I) باکتری → در صورت داشتن ژن انسولین → می‌تواند → آن را بسازد

II) ساختار انسولین → مولکول انسولین فعال → از ۲ زنجیره کوتاه A و B ساخته شده است
متصل به هم

III) در بسیاری از جانداران از جمله انسان → انسولین بصورت یک مولکول پیش‌هورمون ساخته می‌شود...

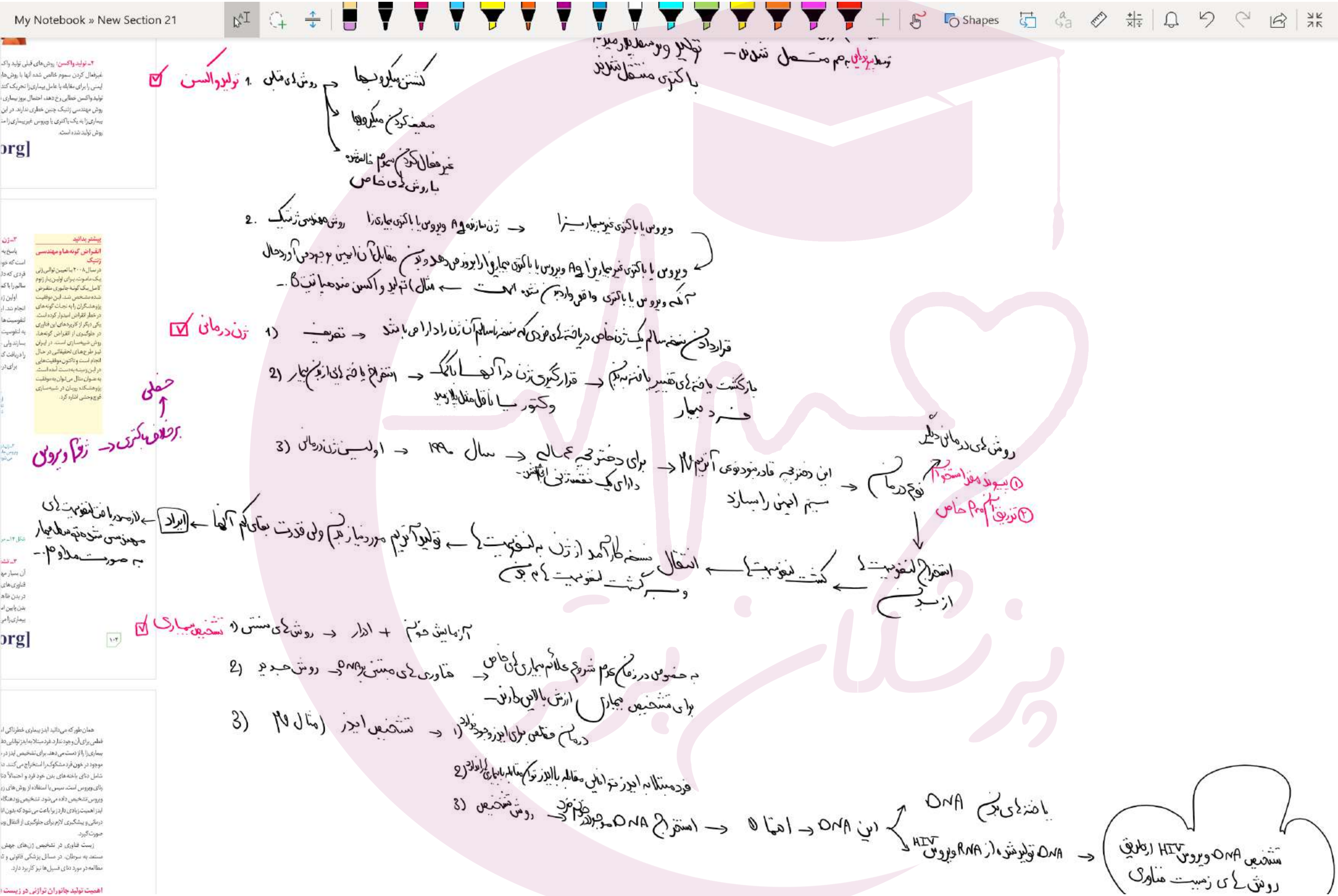
؟ ⓒ

IV) پیش‌هورمون → A C B یک زنجیره پلی‌پپتیدی → با جدا شدن بخشی از توالی به نام C زنجیره پیش‌هورمون به هورمون تبدیل می‌شود

V) تبدیل پیش‌هورمون به هورمون → مهم‌ترین مرحله تولید انسولین → در باکتری‌ها انجام نمی‌شود

VI) سال ۱۹۸۳ → برای اولین بار → دو توالی DNA جداگانه برای تولید زنجیره A و B به شکل جدا تولید و توسط پلازمید به باکتری منتقل شدند → زنجیره‌های پلی‌پپتیدی A و B جدا تولید شدند جمع آوری شده در محیط آزمایشگاه توسط پیوندهای به هم متصل شدند -

☑ تولید واکسن 1. روش‌های قبلی →
- کشتن میکروب‌ها
- ضعیف کردن میکروب‌ها
- غیرفعال کردن سموم خالص شده با روش‌های خاص



توسط پیرنده‌ها هم منتقل شدند — تولید ویروس‌های [illegible] با کتری منتقل شدند

☑ تولید واکسن 1. روش‌های قبلی ←
- کشتن میکروب‌ها
- ضعیف کردن میکروب‌ها
- غیرفعال کردن سموم خالص‌شده با روش‌های خاص

2. روش مهندسی ژنتیک ژن سازنده Ag ویروس یا باکتری بیماری‌زا ← ویروس یا باکتری غیربیماری‌زا ← ویروس یا باکتری غیربیماری‌زا Ag ویروس یا باکتری بیماری‌زا را بروز می‌دهد و بدن مقابل آن ایمنی به وجود می‌آورد حال آنکه ویروس یا باکتری واقعی وارد بدن نشده است ← مثال) تولید واکسن هپاتیت B.

☑ ژن درمانی 1) تعریف ← قرار دادن نسخه سالم یک ژن خاص در یاخته‌های فردی که نسخه سالم آن ژن را دارا نمی‌باشد

2) استخراج یاخته‌های از بدن بیمار ← قرارگیری ژن در آنها با کمک وکتور یا ناقل مثل پلازمید ← بازگشت یاخته‌های تغییر یافته به بدن فرد بیمار

حملی ↑ برخلاف باکتری ← ژنوم ویروس

3) اولین ژن درمانی ← سال ۱۹۹۰ ← برای دختر بچه ۴ ساله دارای یک نقص ژنی ایمنی ← ADA این دختر بچه قادر نبود نوعی آنزیم را بسازد ← سیستم ایمنی ← نوع درمان ① پیوند مغز استخوان ② تزریق آنزیم Pro خاص ← روش‌های درمانی دیگر
↓
استخراج لنفوسیت‌ها از بدن ← کشت لنفوسیت‌ها ← انتقال نسخه کارآمد از ژن به لنفوسیت‌ها و برگشت لنفوسیت‌ها به بدن ← تولید آنزیم مورد نیاز بدن ولی قدرت بقای کم آنها ← ایراد ← لازم بود دریافت لنفوسیت‌های مهندسی شده توسط بیمار به صورت مداوم.

☑ تشخیص بیماری 1) روش‌های سنتی ← آزمایش خون + ادرار

2) روش جدید ← فناوری‌های مبتنی بر DNA ← به خصوص در زمان عدم شروع علائم بیماری‌های خاص برای تشخیص بیماری ارزش بالایی دارند.

3) مثال ۲۹ ← تشخیص ایدز ← 1) درمان قطعی برای ایدز وجود ندارد
2) فرد مبتلا به ایدز توانایی مقابله با الازتونی مقابله با بیماری‌ها را ندارد
3) روش تشخیص ← خون فرد مشکوک ← استخراج DNA ← اما ← DNA این DNA ← یاخته‌های بدن DNA / DNA تولیدشده از RNA ویروس HIV ← تشخیص DNA ویروس HIV از طریق روش‌های زیست فناوری