

محتوای آزمون علمی زیست فناوری پنجمین دوره مسابقات زیست فناوری - برای دانش آموزان دوره دوم متوسطه نظری

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

آشنایی با مهندسی ژنتیک

مهندسی ژنتیک را می‌توان به طور کلی شامل تکنیک‌هایی دانست که باعث بروز یک صفت خاص در یک جاندار می‌شود و یا منجر به تولید یک محصول به شیوه‌ای غیر از شیوه طبیعی می‌شود.

مهندسی ژنتیک، شامل تکنیک‌هایی مانند جداسازی، خالص سازی، وارد کردن و بیان یک ژن خاص در یک میزبان است که نهایتاً منجر به بروز یک صفت خاص و یا یک محصول می‌شود.



کاربردهای مهندسی ژنتیک تقریباً نامحدود به نظر می‌رسد. این علم کاربردهای زیادی در علوم پایه و همچنین تولیدات صنعتی، کشاورزی و علوم پزشکی دارد.

در زمینه علوم پایه، بررسی مکانیزم‌هایی مانند: همانند سازی DNA، بیان ژنها در پروکاریوتها، یوکاریوتها و ویروسها و همچنین چگونگی ساخته شدن و تغییرات پروتئینهای داخلی سلول و مکانیزم ایجاد سرطان از جمله کاربردهای مهندسی ژنتیک است.

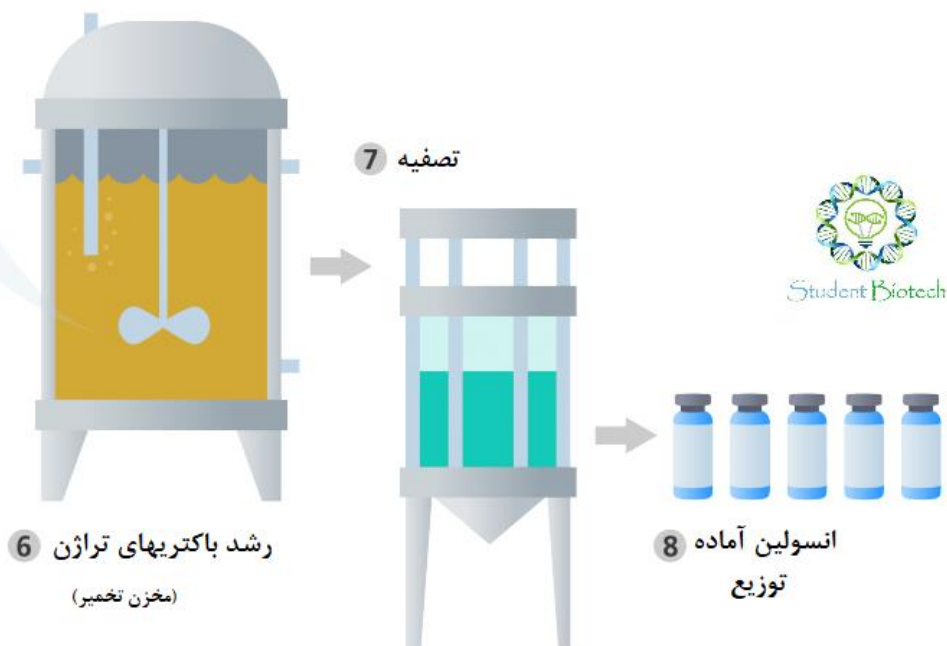
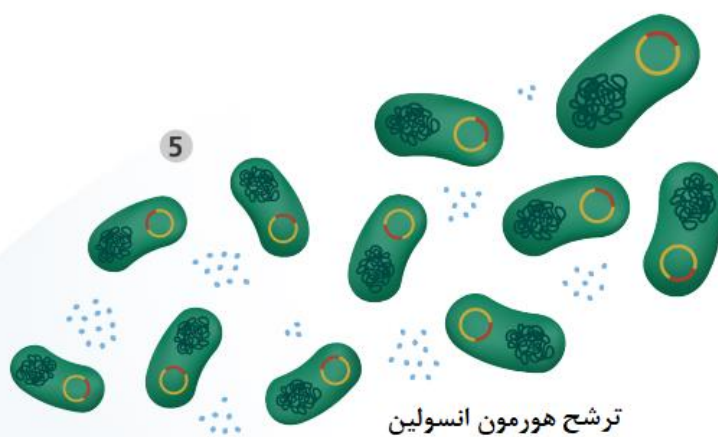
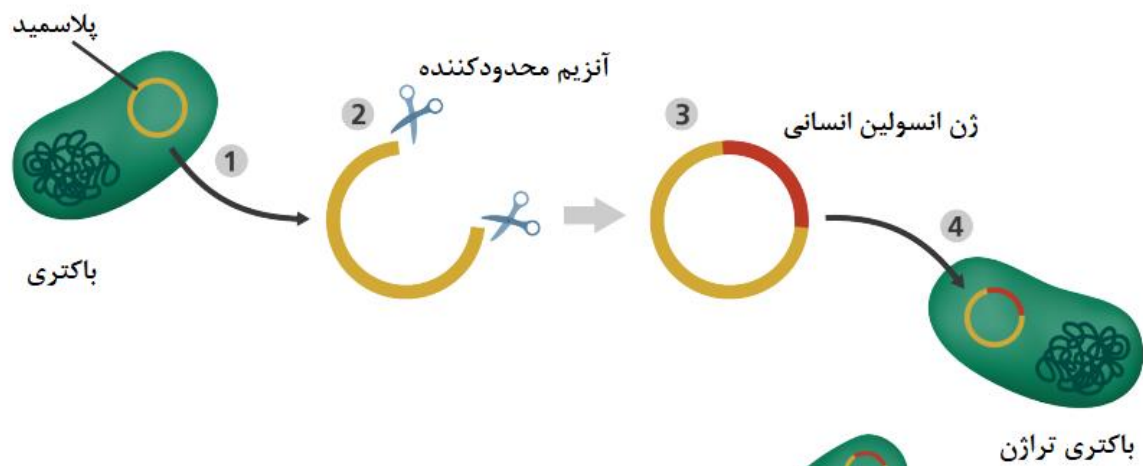
در زمینه کشاورزی تولید گیاهان مقاوم به آفات گیاهی ، تولید گیاهان مقاوم به خشکی ، تولید گیاهان پرمحصول و... ، را می توان نام برد.

در زمینه علوم پزشکی ، تشخیص بیماریهای ارثی ، تولید انسولین انسانی ، تولید هورمون رشد انسان و ... را می توان نام برد .



سال ۱۹۵۳ واتسون و کریک ساختمان سه بعدی DNA را کشف کردند. این ساختمان نسبتاً ساده باعث شد تا از آن پس دانشمندان سیستم‌های مختلف ژنتیکی را بررسی کنند و از این اطلاعات استفاده کنند. به مرور دانشمندان تلاش کردند تا یک DNA را از یک موجود بگیرند و در موجود دیگر وارد کنند تا اثرات آن ژن در موجود ثانویه بروز کند.

انتخاب و جداسازی ژن مورد نظر، وارد کردن ژن مورد نظر در حامل، تکثیر ژن در میزبان مناسب، انتقال حامل ژن به سلول هدف، تکثیر سلول هدف و در نهایت تولید انبوه محصول یا ایجاد صفت مورد نظر مراحل مختلفی هستند که در مهندسی ژنتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند.



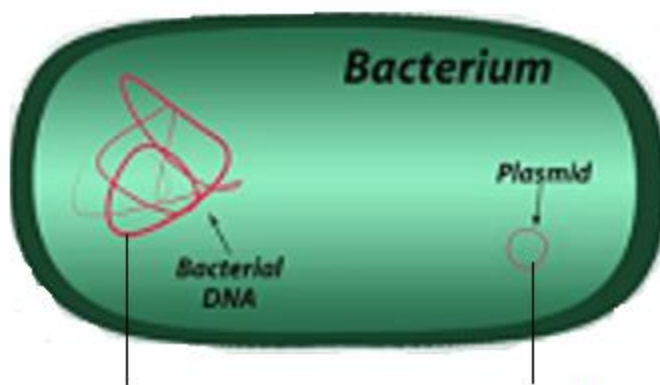
تکثیر یک ژن (ژن کلونینگ) در حوزه‌های مختلف تحقیقاتی مورد استفاده است. به علاوه دارای کاربردهای پزشکی از قبیل ژن درمانی و کاربردهای صنعتی نظیر تولید مقدار زیادی از یک پروتئین است.

ژن کلونینگ فرآیندی است که طی آن توالی مشخصی از DNA را جداسازی می‌کنند تا نسخه‌های یکسانی از آن را در محیط طبیعی (سلول یا بافت زنده) بدست آورند.

هدف از ژن کلونینگ فراهم کردن نسخه‌های متعدد از یک ژن منفرد است. برای کلون کردن ژن قطعه‌ای از DNA را از موجودی به موجود دیگر منتقل می‌کنند. سلولی را که منشا DNA از آن است را «دهنده» و سلولی که آن را دریافت می‌کند را «میزبان» می‌گویند.

کلونینگ ژن به روش‌های مختلفی صورت می‌گیرد اما اساس همه‌ی آنها به این صورت است که DNA هدف از سلول دهنده استخراج می‌شود و با کمک آنزیم‌هایی برش داده می‌شود و به داخل یک مولکول DNA حلقوی، که معمولاً یک پلاسمید است و نقش ناقل (وکتور) را دارد، وارد می‌شود. به این ترتیب یک مولکول DNA نو ترکیب ساخته می‌شود.

در مرحله‌ی بعد DNA نو ترکیب را به سلول میزبان که اغلب نوعی باکتری می‌باشد منتقل می‌کنند. سلول‌های باکتری به دنبال تقسیمات متعدد کلنی تشکیل می‌دهند، از آنجا که DNA نو ترکیب هم همراه باکتری تکثیر شده است، می‌توان گفت ژن مطلوب ما کلون شده است.



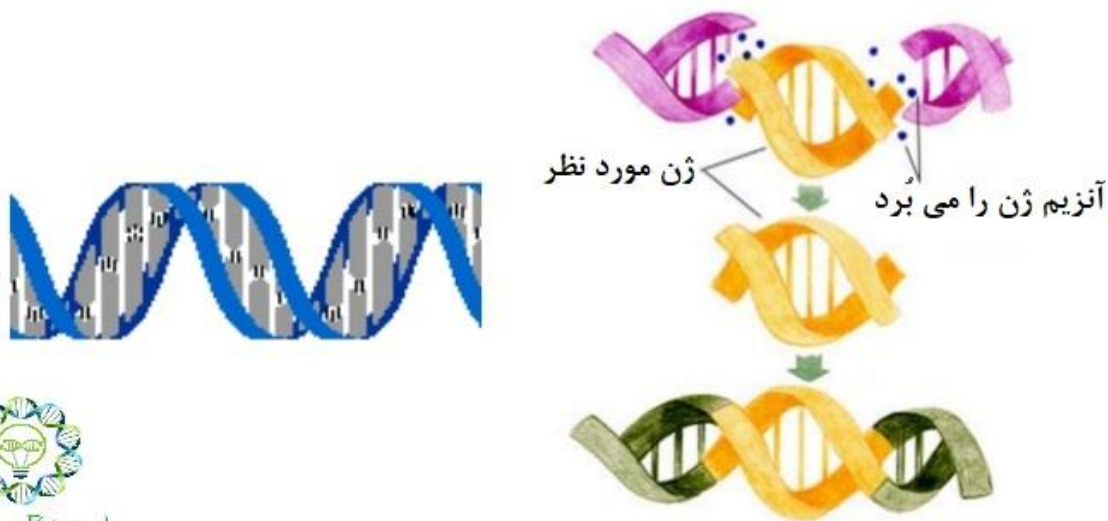
DNA باکتری

پلاسمید



پلاسمید مولکول DNA کوچکی است که بطور مجزا از کروموزوم در سلول وجود دارد. همانند سازی پلاسمیدها در سیتوپلاسم و بطور مستقل انجام می گیرد. پلاسمیدها معمولاً به شکل یک مولکول DNA حلقوی دیده می شوند.

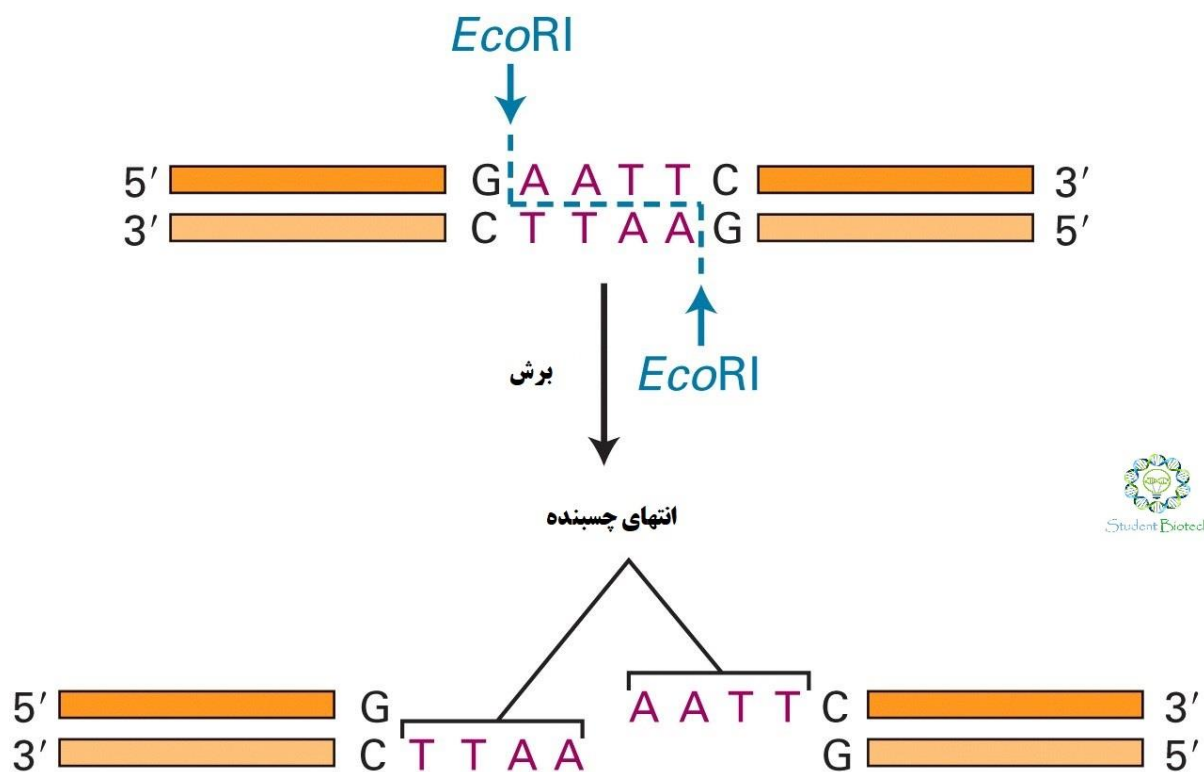
آنزیم های محدود کننده



یکی از کشفیات مهمی که در پیشرفت مهندسی ژنتیک نقش مهمی داشت و تولید DNA نو ترکیب را ممکن ساخت شناخت آنزیم های محدود کننده بود. اولین آنزیم محدود کننده در ۱۹۵۰ کشف گردید.

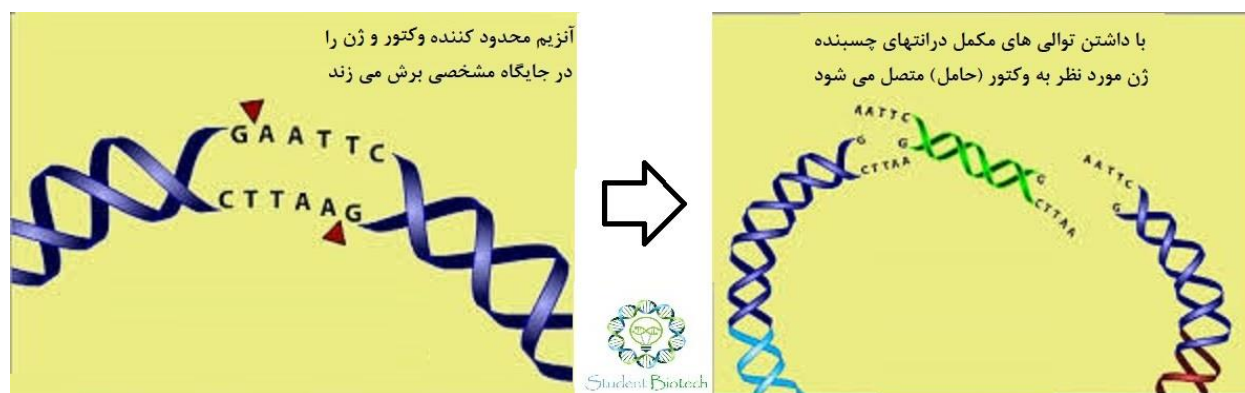
این آنزیم‌ها وسیله‌ی دفاعی باکتری‌ها در مقابل باکتریوفاژها می‌باشند و آنها را با مکانیسمی تحت عنوان "محدود کردن کنترل شده‌ی میزبان" از ابتلا به عفونت‌های باکتریوفاژی مصون می‌دارد. این مکانیسم به این صورت است که باکتری با تولید آنزیم محدود کننده، DNA ویروس را قبل از آنکه فرصت همانندسازی و تکثیر یابد، تجزیه می‌کند.

آنزیم‌های محدود کننده همانند قیچی DNA را در محل‌های ویژه‌ای با ترتیب بازی خاص قطع می‌کنند و برای آنکه DNA قابل برش با آنزیم باشد لازم است که دارای این ترتیب ویژه باشد. توالی‌هایی از DNA که به وسیله‌ی آنزیم شناسایی می‌شوند را "جایگاه شناسایی" می‌گویند که معمولاً ۴-۸ جفت نوکلئوتید دارد معمولاً این نوکلئوتیدها در هر دو رشته دارای توالی یکسان ولی عکس یکدیگر اند:



آنزیم‌های محدود کننده توسط اکثر باکتری‌ها تولید می‌شوند و تاکنون بیش از ۱۲۰۰ نوع از آنها شناسایی شده‌اند. اندونوکلازها را از نظر شیوه‌ی عملکردشان در سه گروه قرار می‌دهند که از آن میان یک گروه در کلونینگ ژن کاربرد و اهمیت دارند زیرا انتهای چسبنده تولید می‌کنند.

در «انتهای چسبنده» هر قطعه‌ی حاصل از برش، ۲ تا ۴ نوکلئوتید تک رشته‌ای و بدون مکمل باقی می‌مانند و از آنجا که می‌تواند با قطعه‌ی مکمل خود جفت شود به آن انتهایی چسبنده می‌گویند. از جمله آنزیم‌هایی که انتهایی چسبنده ایجاد می‌کند می‌توان **EcoRI** با جایگاه شناسایی «GAATTC» از باکتری *Haemophilus influenzae* و **HindIII** با جایگاه شناسایی «AAGCTT» از باکتری *Haemophilus influenzae* نام برد.



اگر دو مولکول DNA مختلف با آنزیم محدود کننده‌ی یکسانی برش داده شوند قطعاتی با انتهایی چسبنده و مکمل ایجاد می‌شود و به این ترتیب می‌توان انتهایی یک DNA را با انتهایی DNA دیگر جفت و متصل کرد و DNA نو ترکیب ایجاد کرد.

کاربرد انتهایی چسبنده به تنهایی برای تولید DNA نو ترکیب کفایت نمی‌کند چرا که پیوند بین ناحیه‌های تک رشته‌ای از نوع پیوند هیدروژنی بین بازهای نیتروژنی DNA است و به اندازه‌ی کافی قوی نیست تا دو مولکول DNA را به همدیگر متصل نگاه دارد. برای رفع این مشکل باید پیوند فسفودی‌استر بین قطعات برقرار کرد که این عمل با به کار بردن آنزیم دیگری به نام «DNA لیگاز» مقدور می‌گردد.

نحوه‌ی نامگذاری آنزیم‌های محدود کننده: حرف اول، که بزرگ نمایش داده می‌شود، از نام سرده‌ی باکتری گرفته می‌شود و ۳ حرف بعدی از حروف اول گونه‌ی باکتری‌ای که آنزیم متعلق به آن است و عدد یونانی که در پایان ذکر می‌شود شماره‌ی آنزیم با توجه به اولویت کشف آنها است. به عنوان مثال **EcoRI** اولین آنزیم کشف شده از *Haemophilus influenzae* و **EcoRV** پنجمین آن می‌باشد.

وارد کردن پلاسمیدها به سلول‌های *E.coli* فرایند کارآمدی نیست. زیرا بسیاری از کلنی‌های حاصل فاقد مولکول پلاسمید بوده و تشخیص دادن آنها از کلنی‌های دارای پلاسمید کار بسیار دشواری است به علاوه سلول‌های بدون پلاسمید نسبت به سلول‌های دارای پلاسمید رشد بهتری دارند، زیرا همانندسازی همزمان DNA کروموزومی و پلاسمید وارد شده انرژی زیادی از سلول می‌گیرد، در نتیجه سلول رشد کمتری خواهد داشت.

بنابراین روشی برای انتخاب کلنی‌های دارای پلاسمید مورد نیاز است. این امکان معمولاً با حضور یک ژن مقاومت به آنتی بیوتیک در پلاسمید، فراهم می‌شود. اضافه کردن آنتی بیوتیک به محیط کشت موجب می‌شود تنها سلول‌هایی زنده بمانند و رشد کنند که ژن مقاومت به آنتی بیوتیک مربوطه را به دلیل حضور یک پلاسمید نو ترکیب بیان می‌کنند و سلول‌های بدون پلاسمید حذف گردند. در این مورد، فقط بعضی آنتی بیوتیک‌ها برای استفاده مناسب هستند. زیرا بعضی از آنتی بیوتیک‌ها مصارف درمانی دارند و استفاده از ژن مقاومت به این آنتی بیوتیک‌ها در پلاسمیدها جهت کلونینگ صحیح نیست. مقاومت آنتی بیوتیکی متداول که در وکتورهای پلاسمیدی *E. coli* تعبیه می‌شوند عبارتند از: مقاومت به آمپی سیلین، کانامایسین، تتراسایکلین و کلرامفنیکل