به نام خدا

زیست شناسی دوازدهم

جزوه ترکیبی و مفهومی فصل فناوری های نوین زیستی

مؤلف : عبدالسلام رسولی مدرس زیست شناسی

رفقای عزیز سلام قبل از شروع درس لطفاً این ایستگاه مشاوره ای رو بخونید.

چراغ قوه‌ی فصل: چراغ قوه یک اصطلاح خودمونی است که در ابتدای جزوه هام قرار می دم که نقش یک ایستگاه مشاوره ای را دارد، مشاوره در باره چطور خوندن فصل مورد نظر و راه کارهایی برای بازدهی بیشتر. پس این چراغ قوه را در طول خواندن این فصل همراه خود داشته باشید تا به راه راست درس خواندن هدایت شید.! فصل فناوری های زیستی یک فصل تقریباً حفظی است که از ۳ گفتار تشکیل شده است. گفتار اول تقریباً مهمترین گفتار این فصل است و شما باید مراحل مهندسی ژنتیک و نحوه تولید دنای نوترکیب و جانداران تراژن را به خوبی یاد بگیرید. همچنین برای تسلط بر این گفتار مرور فصل یک و دو دوازدهم می تواند بسیار مفید باشد. گفتار دوم بیشتر حفظی است ولی قسمت یاخته های بنیادی آن قابل ترکیب با زیست دهم قسمت یاخته های خونی و زیست یازدهم قسمت استخوان و قسمت دستگاه تولید مثل زنان است . در گفتار سوم هم نکات حفظی وجود دارد هم نکات مفهومی. قسمتهایی مثل تولید دارو و ژن درمانی و تولید جانوران تراژن یک سری مراحل دارد که باید ترتیب مراحل را بلد باشید. در کل راز موفقیت در این فصل تکرار زیاد مباحث حفظی ، یادگیری ترتیب مراحل و توجه به مباحث ترکیبی با بقیه فصل ها میباشد که البته خبر خوب این است که من همه این کارها رو براتون انجام دادم و شما کافیه کتاب درسی و این جزوه رو خوب بخونید و نکته برداری کنید سپس از کتابهای استانداردی مثل آبی قلمچی و سه سطحی قلمچی تست بزنید. راستی تا یادم نرفته بگم که این فصل در کنکورهای نظام قدیم معمولا هر سال یک تست را یا به صورت مستقیم یا غیر مستقیم (یعنی به صورت ترکیبی با بقیه مباحث) داشت پس احتمالاً در کنکور ۹۸ یک تست از این فصل داریم. آماده اید ؟ بریم که این فصل رو بترکونیم

برای دانلود رایگان نمونه سوالات نوبت دوم روی اینجا بزنید

زیست فناوری: قسمت اول این گفتار کاملا حفظیه ولی نگران نباش از صفحه ی دوم کتاب به بعد به نکات مفهومی هم می رسیم .

به طور کلی به فعالیت های هوشمندانه ای که به کمک موجودات زنده برای تولید و بهبود محصولات گوناگون انجام می شود زیست فناوری می گویند. یک سری کارها در این حوزه انجام می شود .

۱-تامین نیاز دارویی بیماری هایی که تولید دارو برای آنها با روش های عادی سخت است . مثل بیماری هموفیلی که کمبود فاکتور انعقادی شماره ۸ را دارند . در چنین بیماری هایی که به ژن مربوط است ، جهش در یک ژن باعث تغییر در محصول آن می شود و می تواند بیماری ایجاد کند و باتوجه به افزایش افراد نیازمند به این نوع دارو ها، زیست فناوری با تولید انبوه داروها به کمک بشر می آید .

۲-تولید بیوِپلاستیک یا همان پلاستیک قابل تجزیه : در برخی باکتری ها ژن سازنده بسپاری از پلاستیک وجود دارد که اگر این ژن را از باکتری به گیاه منتقل کنیم ، گیاه پلی مرهای لازم را برای ساخت نوعی پلاستیک زیستی می سازد و ما می توانیم پلاستیک تجزیه پذیر تولید کنیم.

زیست فناوری روش های زیر را در بر می گیرد : (حواست باشه روش رو با گرایش اشتباه نگیری)

۱-مهندسی ژنتیک : ژن خاصی را از یک جاندار برداشته و به جاندار دیگری منتقل می کنیم و جاندار دریافت کننده ، ویژگی های حاصل ازژن دریافتی را نشان می دهد .

۲-مهندسی پروتئین : هدف تغییر در ویژگی های پروتئین وبهبود عملکردآن می باشد .

۳-مهندسی بافت : تولید بافت های مختلف با استفاده از یاخته های بنیادی و یا حتی یاخته های تمایز یافته

در زیست فناوری گرایش(نه روش) های علمی متعددی وجود دارد مثل علوم زیستی–فیزیک–ریاضیات و علوم مهندسی. به علت کاربردهای فراوان زیست فناوری ، ازآن به عنوان نشانه پیشرفت کشورها یاد می کنند.

زیست فناوری را به ۳ دوره تقسیم بندی می کنند:

۱-زیست فناوری سنتی : در این دوره به صورت تجربی از میکروارگانیسم ها برای تهیه محصولات تخمیری استفاده می شد ولی از خود میکروارگانیسم ها و فرآیندهایی که باعث تولید سرکه ، شیر و نان می شد، مثل فرایند تخمیر، اطلاعی چندانی نداشتند.

*ترکیب *: تخمیر فرایندی است که در شرایط کمبود اکسیژن یا نبود اکسیژن در انواعی از جانداران برای تامین انرژی رخ می دهد و تخمیر انواع مختلفی دارد که در سطح کتاب ۲نوع را خوانده اید الف: تخمیر الکلی که باعث ورآمدن خمیر نان می شود و محصول نهایی آن اتانول و دی اکسید کربن می باشد. ب: تخمیر لاکتیکی که بیشتر در تولید محصولات لبنی کاربرد دارد و محصول نهایی آن لاکتات است ولی دی اکسید کربن ندارد.

* مثلاً تخمیر الکلی در مخمر(نوعی قارچ) انجام می شود. انواعی از باکتری ها هم تخمیر لاکتیکی انجام می دهند. در یاخته های ماهیچه ای اسکلتی هم در شرایط ورزش شدید تخمیر لاکتیکی مشاهده می شود. در گلبول های قرمز هم به دلیل نبود میتو کندری (راکیزه)تخمیر انجام می شود. در ضمن یادتون باشه یاخته های انسانی توانایی تخمیر الکلی ندارند . گیاهان هم در شرایط غرقابی می توانند هر دونوع تخمیر الکلی و لاکتیکی را انجام دهند.

زیست فناوری کلاسیک : در این دوره انسان توانست میکرو ارگانیسم های مختلفی را کشف و شناسایی کند و علاوه بر استفاده از تخمیر آنها، از میکرو ارگانیسم هایی که درآزمایشگاه قابل کشت بودند هم استفاده شد و تولید پادزیست (آنتی بیوتیک) و آنزیم ها و مواد غذایی در این دوره اتفاق افتاد .

زیست فناوری نوین : این دوره با انتقال ژن از یک ریز اندامگان به یک ریز اندامگان دیگر شروع شده به این انتقال ژن مهندسی ژنتیک می گوییم. دانشمندان در این دوره توانستند با تغییر و اصلاح خصوصیات ریز اندامگان ها، ترکیبات جدید را با مقادیر بیشتر و کارایی بیشتر تولید کنند. یعنی یک ژن مطلوب را از یک موجود به موجود دیگر منتقل می کنند و جاندار دریافت کننده که دیگر یک جاندار دست ورزی شده به حساب می آید آن ژن مورد نظر یا محصول ژن را برای ما تولید می کند و صفتی را بروز می دهد که قبلانداشته است .

یاد آوری: میکرو ارگانیسم : هر نوع سامانه زیستی که برای دیدنش از میکروسکوپ کمک گرفته شود را میکرو ارگانیسم می نامند.

مهندسی ژنتیک : به طور کلی در مهندسی ژنتیک این اتفاقات می افتد:

قطعه ای از دنای یاخته ای مثلاً یاخته ی x توسط یک ناقل به یک یاخته دیگر مثلاً y منقل می شود. یعنی ایتدا با کمک آنزیم ژن مورد نظر مان (ژنی که می خواهیم خودش یا محصولش به تولید انبوه برسد) را از یاخته x جدا می کنیم . سپس ژن مورد نظرمان را به ناقل متصل می کنیم و این دنای جدید که یک دنای نوترکیب است (دنای نوترکیب= ژن مورد نظر+ ناقل) را به یاخته y منقل می کنیم .(توجه : منظور از x یاخته دارای ژن مورد نظر و منظور از y یاخته دریافت کننده ژن می باشد) حالا دنای نوترکیب که ژن مورد نظر ما در آن قرار دارد در

یاخته‌ی y به تولید انبوه می رسد.این حرف هاخلاصه ای از مهندسی ژنتیک بود که اکنون به بررسی دقیق هریک از مراحل آن می پردازیم اما قبل ازآن یادگیری چند تعریف الزامی است.

ناقل: برای انتقال ژن مورد نظر به یاخته‌ی y به یک ناقل نیاز داریم .طبق متن کتاب ناقلین ، توالی های دنایی هستند که در خارج از فام تن اصلی قرار دارند و می توانند مستقل از آن تکثیر شوند. یکی از این مولکول ها دیسک (پلازمید) باکتری است. دیسک یک مولکول دنای دو رشته ای و حلقوی خارج فام تنی است که معمولاً درون باکتری ها و بعضی از قارچ ها مثل مخمرها وجود دارد (البته یادتون باشه همه باکتری ها لزوماً دیسک ندارند).

دیسک ها را فام تن های کمکی نیز می نامند چون حاوی ژن هایی هستند که در فام تن اصلی باکتری وجودندارد. مثلاً ژن مقاومت به آنتی بیوتیک در دیسک وجود دارد .در صورت انتقال دنای نوترکیب به یاخته های میزبان ، با هر بار همانند سازی دیسک ، ژن مورد نظر مانیز همانند سازی می شود.

* با اینکه همانند سازی دیسک مستقل از یاخته ی میزبان است ولی این مستقل بودن فقط از نظر زمانی است یعنی زمانی که فام تن اصلی همانند سازی نمی کند،دیسک می تواند همانند سازی کند ولی به آنزیم های یاخته میزبان وابسته است چون خودش آنزیم ندارد.(دیسک خودش یک مولکول دناست پس آنزیم نداره یادت نرفته که؟!. البته اینم بگم دیسک می تواند هم به صورت مستقل و هم به صورت هماهنگ با فام تن اصلی همانند سازی کند.)

انتخاب اینکه چه ناقلی را برای مهندسی ژنتیک به کار ببریم تا حدودی بستگی به یاخته میزبان هم دارد مثلاً پلازمید معمولاً(نه همیشه)برای میزبان های گیاهی و باکتری مناسب است و باکتریوفاژ (نوعی ویروس) برای یاخته های جانوری.

ترکیب : میتوکندری و کلرو پلاست هم در یاخته های یو کاریوتی می توانستند مستقل از فام تن داخل هسته همانند سازی کنند با این تفاوت که این دو اندامک آنزیم های لازم برای همانند سازی و رونویسی را خودشان داشتند و به آنزیم های داخل هسته نیازی نداشتند.

آنزیم برش دهنده : به طور طبیعی در باکتری ها یافت می شود پس ژن آن پروکاریوتی است و توسط رنا بسپاراز پروکاریوتی رونویسی می شود . در ساخت این آنزیم که از جنس پروتئین می باشد یک نوع رنابسپاراز در رونویسی دخالت دارد و چون پروکاریوت ها یک نوع آنزیم رنابسپاراز دارند. مونومر این آنزیم ها آمینو اسید است و پیش ماده این آنزیم ها توالی خاصی از دنای دو رشته ای است و مونومر پیش ماده آن دئوکسی ریبونوکلئوتید اسید

می باشد. پیش ماده آن می تواند دنای خطی باشد مثلاً ژن انسانی و یا حلقوی باشد مثلاً پلازمید برای مهاجمان باکتری خطرناک است و نقش دفاعی دارد.

ترکیب : پوشینه در باکتری های موردآزمایش گریفیت هم نقش دفاعی داشت چون فقط باکتری های دارای پوشینه می توانستند در برابر سیستم ایمنی فرد از باکتری مراقبت کنند. همچنین ژن مقاومت به انتی بیوتیک هم نقش دفاعی برای باکتری دارد و باکتری را از اثر آنتی بیوتیک حفظ می کند. یکی از انواع آنزیم های برش دهنده آنزیم ECoRI است که توالی به نام $\overset{GAATTC}{CTTAAG}$ را شناسایی می کند.

آنزیم لیگاز : برخلاف آنزیم های برش دهنده نقش اتصال و برقراری پیوند فسفودی استررا دارد. از جنس پروتین است پس مونومر آن همانند آنزیم برش دهنده آمینواسید می باشد.

در این قسمت یک تیپ تست متداول وجود دارد و آن هم این است که آنزیم های مختلف شرکت کننده در فرایندهای همانند سازی ، رونویسی و مهندسی ژنتیک را از نظر اثر بر روی پیوندهای مختلف باهم مقایسه می کنند که ماهم این نکات رو براتون یک جاآوردیم (تا وقتی که به روش استاد رسولی زیست میخونی بابت این مقایسه ها نگران نباش)

آنزیم هایی که توانایی تشکیل پیوند فسفودی استر را دارند:DNA لیگاز،DNAبسپاراز، RNAبسپاراز

آنزیم هایی که توانایی شکستن پیوند فسفودی استررا دارند: آنزیم برش دهنده و آنزیمDNA بسپاراز در فرایند ویرایش

آنزیم هایی که توانایی شکستن پیوند هیدروژن را دارند: هلیکاز، RNA بسپاراز و به طور غیر مستقیم آنزیم برش دهنده

نکته ی مهم :دقت داشته باشید که تشکیل پیوند هیدروژزن برخلاف شکستن آن ، نیازی به آنزیم ندارد و به صورت خود به خودی انجام می شود. در ضمن شکستن پیوند هیدروژنی هیدرولیز نیست پس مصرف آب ندارد در حالی که شکستن پیوند فسفودی استر هیدرولیز است و طی این فرایند آب مصرف می شود.

ادامه ی بحث مهندسی ژنتیک: در مهندسی ژنتیک یاخته ای که دریافت کننده ژن خارجی است، دچار دست ورزی ژنتیکی شده و دارای صفتی جدید می شود و به جانداری که از طریق مهندسی ژنتیک دارای ترکیب جدیدی از مواد ژنتیکی شده ، جاندار تغییر یافته ژنتیکی یا تراژن می گویند.

البته دقت کنید که طبق کتاب زیست دهم ، به جاندارانی که ژن خارجی را از افرادی غیر از گونه ی خود دریافت کنند تراژن گفته می شود (پس اگر یک جاندارژن خارجی را از فرد همگونه اش دریافت کند دچار دست ورزی ژنتیکی شده ولی تراژن محسوب نمی شود(پس یادت باشه هر گردی گردو نیست!)

اولین جاندارانی که دست ورزی ژنتیک شدند، باکتری ها بودند. اما بعدها با پیشرفت علم امکان دست ورزی برای سایر موجودات زنده مثل گیاهان و جانوران نیز فراهم شد. درضمن یادتون باشه همه ی این اتفاقات مربوط به مهندسی ژنتیک و دست ورزی ژنتیک مربوط به دوره زیست فناوری نوین می باشد.

کتاب ما برای ایجاد جانداران تراژن از طریق مهندسی ژنتیک مثالی ازگیاهان زراعی تراژن آورده که در ادامه مراحل آن را با هم بررسی می کنیم ولی حتماً توضیحات مفصل تر درباره این مراحل رو از ویس همراه جزوه که در کانال کانون گذاشته می شودگوش دهید.

۱-تعیین صفت یا صفات مطلوب : آن ویژگی یا صفتی که می خواهیم در جاندار میزبان ایجاد کنیم را ابتدا مشخص می کنیم.

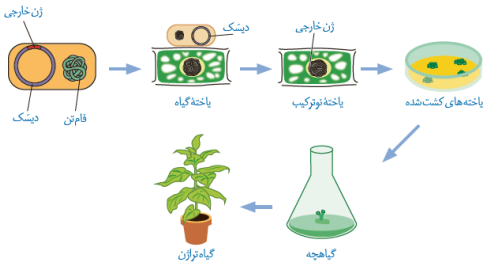
۲-استخراج ژن یا ژن های مورد نظر: ژن مورد نظر را از جاندار مبدأ استخراج می کنیم.

۳-آماده سازی و انتقال ژن مورد نظر به گیاه : یعنی دنای نو ترکیب را ایجاد می کنیم و دنای نو ترکیب را وارد باکتری می کنیم و بعد از اینکه ژن مورد نظر مابه تعداد فراوان تکثیر شده ، آن ژن را با روش هایی (خارج از کتاب) وارد هسته ی یاخته ی گیاهی می کنیم.

۴-تولید گیاه تراژن : این یاخته های نو ترکیب گیاهی را در محیط کشت رشد می دهیم و به کمک فن کشت بافت ابتدا گیاهچه و سپس گیاه تراژن اصلی ایجاد می شود.

۵-بررسی دقیق ایمنی واثبات بی خطر بودن برای سلامت انسان و محیط زیست : چون گیاه تراژن تولید شده دارای ویژگی های جدیدی است که قبلاً نبوده است، پس باید بررسی کنیم که آیا برای انسان و محیط زیست خطری دارد یانه.

۶-تکثیر و کشت گیاه تراژن با رعایت اصول ایمنی زیستی: اگر مراحل قبلی با موفقیت طی شود، با رعایت اصول ایمنی زیستی به نحوی که به محیط زیست آسیبی نرسد، گیاه را تکثیر می کنیم .این گیاهان تراژن در همه ی یاخته های هسته دار و زنده پیکرشان ژن مورد نظر را دارندکه بسته به شرایط تنظیم بیان ژن ، این ژن مورد نظر در برخی یاخته ها بیان می شود و در برخی دیگر خیر.



شکل ۱ـ روش عمومی تولید یک گیاه تراژنی

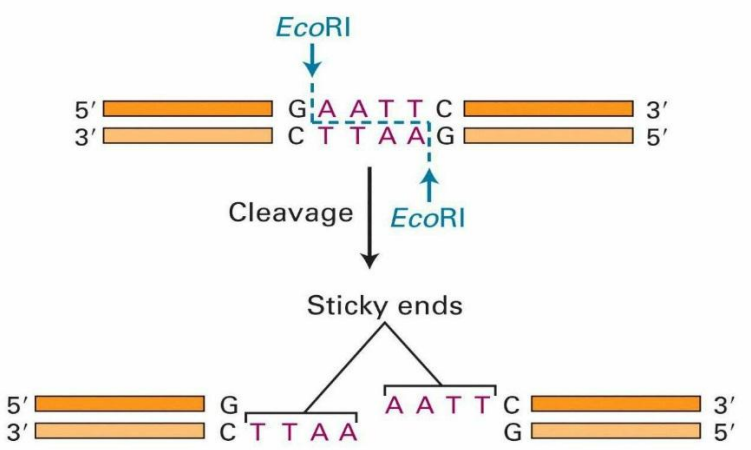
مراحل مهندسی ژنتیک : یکی از اهداف مهندسی ژنتیک تولید انبوه ژن و فراورده های آن می باشد. تولید انبوه ژن با همسانه سازی دنا انجام می شود. جداسازی یک یا چند ژن و تکثیر آنها را همسانه سازی دنا می گویند. در همسانه سازی دنا ماده وراثتی در خارج از یاخته با ابزارهای مختلفی تهیه می شود و سپس به وسیله ی یک ناقل همسانه سازی به درون ژنوم میزبان منتقل می شود. هدف از این کار تولید مقدار زیادی دنای خالص است که می تواند برای دست ورزی ، تولید یک ماده به خصوص و یا مطالعه مورد استفاده قرار گیرد.

دقت کنید منظور از دنای خالص در اینجا ، همون ژن مورد نظر ماست که حالا در فرایند همسانه سازی به تولید انبوه رسیده و می توان ازآن در۱-دست ورزی (مثلاً تولید گیاه تراژن)۲- تولید یک ماده مخصوص (مثلاً تولید هورمون رشد یا فاکتور انعقادی مورد نیاز برای انعقاد خون)یا ۳- مطالعه(برای دانشمندان و محققان)استفاده کرد.

مهندسی ژنتیک شامل ۴ مرحله کلی است: ۱-جداسازی قطعه ای از دنا(همون ژن مورد نظر)۲-اتصال ژن مورد نظربه ناقل و تشکیل دنای نو ترکیب۳- وارد کردن دنای نوترکیب به یاخته میزبان۴-جداسازی یاخته های تراژن از بقیه یاخته ها.اکنون به بررسی دقیق هریک از این مراحل می پردازیم:

مرحله ۱) این مرحله توسط آنزیم های برش دهنده انجام می شود. معروف ترین آنزیم برش دهنده EcoRI است که در باکتری ها وجود دارد و ماهم مثل کتاب عمل این آنزیم را به عنوان نمونه ای از آنزیم های برش دهنده بررسی می کنیم .قدم اول برای جدا کردن ژن مورد نظر این است که به وسیله ی آنزیم برش دهنده دو سر ژن مورد نظر را ببریم ، یعنی در دو طرف ژن مورد نظرمان باید جایگاه تشخیص برای آنزیم برش دهنده داشته باشیم.

درمورد آنزیم EcoRI می دانیم که جایگاه تشخیص آن به صورت $\begin{matrix}GAATTC\\CTTAAG\end{matrix}$ می باشد این آنزیم پیوند بین نوکلئوتید GوA را در هر دو رشته می شکند ولی این شکستن برای جدا شدن ژن کافی نیست و باید پیوند هیدروژنی بین $\begin{matrix}AATT\\TTAA\end{matrix}$ نیز شکسته شود که این پیوند ها هم بعد از شکستن پیوند فسفودی استر بین G وA در دورشته ، شکسته می شوند ولی یادتون باشه این آنزیم برش دهنده ، در شکستن پیوندهای هیدروژن به طور غیر مستقیم دخالت دارد. نحوه شکستن پیوندها بدین صورت است:



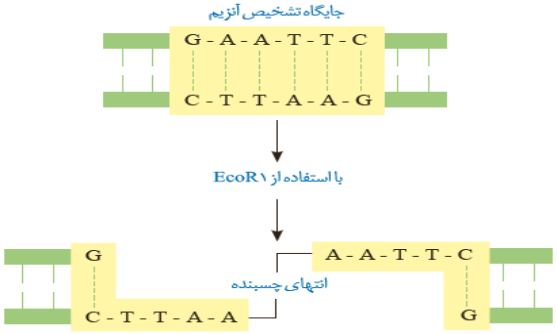
پس در مرحله ی اول در اثر عملکرد آنزیم ECORI در هر جایگاه تشخیص دو پیوند فسفودی استر و تعدادی پیوند هیدروژن شکسته می شود یعنی در مجموع برای جدا کردن ژن مورد نظر ۴ پیوند فسفودی استر شکسته خواهد شد.در ضمن یادت باشه پیوند فسفودی استر بین دو نوکلئوتید A وG در اصل پیوند بین قند یک نوکلئوتید با فسفات نوکلئوتید دیگری است پس در تست ها یه وقت اشتباه نزن پیوند باز بین باز A و بازG چون اصلاً بین بازها پیوند فسفودی استر وجود ندارد(میبینی رفیق ، حواسم به همه چی هست!)

پس با استفاده از آنزیم های برش دهنده ، دنا را به قطعات کوچکتری تبدیل می کنند حال این قطعات رابا روش های خاصی جدا می کنند و تشخیص می دهند.

مرحله ی ۲: در این مرحله اتصال ژن مورد نظر به ناقل که در اینجا پلازمید است را داریم .البته باید خود پلازمید هم برش بخورد تا بتوانیم ژن مورد نظر را در آن جای دهیم . آنزیمی که برای برش در پلازمید استفاده می شودباید همان آنزیمی باشد که دو سر ژن خارجی را با آن بریدیم. دلیل این کار هم این است که برای تشکیل دنای نو ترکیب و چسبیدن انتهای چسبنده ژن مورد نظر به انتهای چسبنده پلازمید باید این جایگاه تشخیص‌ها با یک نوع آنزیم برش داده شوند تا توالی انتهای چسبنده در ژن مورد نظر وپلازمید مکمل هم باشد.

نکته مهم دیگر این است که پلازمید باید یک جایگاه تشخیص برای آنزیم برش دهنده داشته باشد. دلیل این موضوع هم این است که اگر بیش از یک جایگاه تشخیص داشته باشد امکان دارد پلازمید قطعه قطعه شده و اصلاً فرایند تشکیل دنای نو ترکیب بهم بخورد . با ایجاد برش برروی پلازمید این مولکول حلقوی به یک مولکول خطی تبدیل می شود و آماده پذیرش ژن مورد نظر است . وقتی انتهاهای چسبنده حاصل از عمل یک نوع آنزیم باشند، مکمل هم خواهند بود و باهم پیوند هیدروژنی برقرار می کنند(تشکیل پیوند هیدروژنی خود به خودی و بدون دخالت آنزیم می باشند) و سپس به کمک آنزیم لیگاز پیوند فسفودی استر بین دو قطعه مولکول دنا برقرار خواهد شد. پس در این فرایند تشکیل دنای نو ترکیب که کتاب مثال زده ۳ جایگاه تشخیص برای آنزیم ECORI

داشتیم .دو تا جایگاه در دو طرف ژن مورد نظر و یک جایگاه بر روی پلازمید. در هر جایگاه تشخیص هم دو انتهای چسبنده ایجاد می شود پس در مجموع ۶ انتهای چسبنده داشتیم و برای هر جایگاه تشخیص ۲ پیوند فسفودی استر شکسته می شودپس در مجموع ۶ پیوند فسفودی‌استر شکسته می شود. همچنین آنزیم لیگاز برای اتصال ژن مورد نظر به پلازمید ۴ پیوند فسفودی استر تشکیل می دهد.



شکل ۲ــ برش مولکول دنا توسط آنزیم EcoR۱

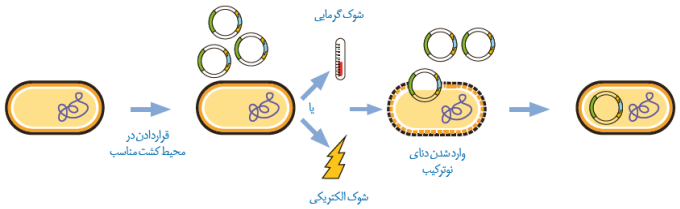
در ضمن بر روی پلازمید علاوه بر جایگاه تشخیص آنزیم برش دهنده ، ژن مقاومت به آنتی بیوتیک و جایگاه شروع همانند سازی نیز وجود دارد که آنزیم برش دهنده کاری با آنها ندارد.

شکل ۳ــ طرح ساده‌ای از دیسک و یک ژن خارجی

شکل ۴ــ تشکیل دنای نوترکیب: الف) قبل از تأثیر لیگاز و ب) بعد از تأثیر لیگاز

ترکیب: دقت کنید که پلازمید یک جایگاه شروع همانند سازی دارد ولی چندین جایگاه شروع رونویسی دارد.

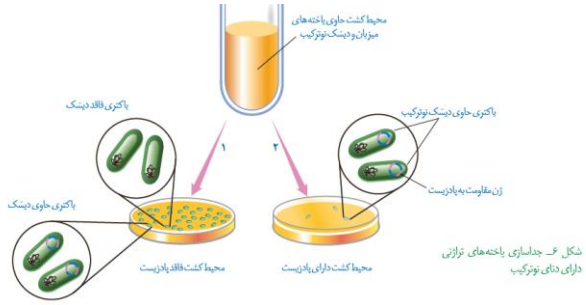
مرحله ی ۳): در این مرحله دنای نوترکیب را وارد یاخته میزبان ، مثلاً در این جا باکتری می کنند البته برای این کار باید منافذی در دیواره باکتری ایجاد شود. این منافذ از طریق شوک الکتریکی ویا شوک حرارتی همراه با مواد شیمیایی ایجاد می شود.طبق شکل کتاب منافذ هم در دیواره باکتری ایجاد می شود هم در غشای باکتری البته این منافذ دوباره ترمیم و بسته می شوند در فصل چهارم خواندیدکه صفت مقاومت در برابر آنتی بیوتیک می تواند از باکتری های مقاوم به باکتری های غیر مقاوم منتقل شود پس همیشه برای انتقال دنا به باکتری وجود شرایط خاص و بهره گیری از مهندسی ژنتیک لازم نیست چون همان طور که اشاره شد به طور طبیعی نیز امکان انتقال دنا به باکتری وجود دارد .همچنین در این مرحله مشاهده می شود که لزوماً همه باکتری ها دنای نو ترکیب را دریافت نکرده اند بلکه برخی از باکتری ها می توانند دنای نوترکیب را دریافت کنند.



شکل ۵ـ وارد کردن دنای نوترکیب به یاخته میزبان

مرحله ی ۴): هدف ما این بود که ژن مورد نظرمان را تکثیر کنیم پس باید اول مشخص کنیم کدام باکتری ها این دنای نو ترکیب را دارند تا ما آن باکتری ها را تکثیر کنیم . پس ابتدا باکتری های فاقد دنای نوترکیب را از باکتری ها دارای دنای نو ترکیب جدا می کنیم. برای این کار روش های مختلفی وجود دارد و یکی از روش ها استفاده از خاصیت مقاومت یا عدم مقاومت در برابر آنتی بیوتیک است. بدین صورت که به محیط کشت باکتری ها آنتی بیوتیکی مثل آمپی سیلین اضافه می کنیم .باکتری های دارای دنای نوترکیب زنده می مانند و باکتری های فاقد دنای نوترکیب می میرند و بدین صورت جداسازی صورت می گیرد.

ترکیب: ژن مقاومت به آنتی بیوتیک پروتئینی را رمز می کند که باعث مقاومت باکتری در برابر آنتی بیوتیک می شود و حتی باکتری می تواندآنتی بیوتیک را به مولکول قابل استفاده برای خود تبدیل کند و پس در این مرحله از روی ژن مقاومت به آنتی بیوتیک رونویسی می شودو$mRNA$ حاصل ترجمه می شود و ظراح می تواند فرایند های مربوط به رونویسی و ترجمه را از شما بپرسد(میبینیدکه حتی فکر طراح رو هم بهتون گفتم ، دیگه از این بهتر چی می خواهید؟!)



نکته شکل ۶ : یک بار باکتری را وارد محیط کشت فاقد آنتی بیوتیک می کنیم. می بینیم که هر دونوع باکتری (باکتری دارای دنای نوترکیب و باکتری فاقد دنای نو ترکیب) در آن رشد می کنند ولی با انتقال باکتری ها به محیط کشت دارای آنتی بیوتیک مشاهده می شودکه فقط باکتری های دارای دنای نو ترکیب زنده مانده اند.

پس از جداسازی باکتری های دارای دنای نو ترکیب ، این باکتری ها با سرعت بالایی تکثیر می شوند(تقسیم دو تایی انجام می دهند) . همچنین دناهای نو ترکیب هم به طور مستقل ازفام‌تن اصلی باکتری، همانند سازی می‌کنند و در نتیجه ژن مورد نظر ما به سرعت تکثیر می شود. حال که مقادیر فراوانی از ژن مورد نظر ما تولید شده است بستگی به این دارد که ما خود ژن را بخواهیم یا محصول ژن را مثلاً یک پروتئین خاص را اگربخواهیم پروتئین تولید کنیم باید زمینه را برای رونویسی و ترجمه آماده کنیم و گرنه با آنزیم برش دهنده اولیه ژن مورد نظر را از دنای نو ترکیب استخراج می کنیم.امروزه با پیشرفت مهندسی ژنتیک می توان یاخته های دیگری مثل مخمرها، یاخته های گیاهی و حتی جانوری را دست ورزی کرد.

مهندسی پروتئین: انجام تغییراتی در پروتئین ها به منظور تغییر در ویژگی های آنها و همچنین بهبود عملکردآنها در شاخه ای از زیست فناوری قرار می گیردکه به آن مهندسی پروتئین می گوییم. این تغییرات با ایجادتغییر در توالی آمینواسیدها ایجاد می شودچون تغییر در توالی آمینواسیدها می تواند باعث تغییر در شکل فضایی پروتئین و در نتیجه تغییر در عمل آن می شود.چنین پروتئین‌های تغییر یافته ای با اهداف مختلف مثلاً درمانی و تحقیقاتی ساخته می شوند، انجام چنین تغییراتی نیازمند شناخت کامل از ساختار و عملکردپروتئین می باشد. به طور کلی این تغییرات به دو دسته ی کلی یا جزئی تقسیم بندی می شوند. در تغییر جزئی یک یا چند آمینو اسید با پروتئین طبیعی تفاوت وجود دارد .

ترکیب: در بیماری کم خونی داسی شکل ، تفاوت در یک آمینواسید باعث ایجاد بیماری در فرد می شود.

* دقت کنید که تغییر در پروتئین ها از طریق تغییر در نوکلئوتیدهای ژن مربوطه ایجاد می شود چون مثلاً اگر بخواهیم تعداد زیادی پروتئین را تغییر دهیم ، تغییر تک تک پروتئین ها از طریق جابه جایی آمینو اسیدهایشان

کاری سخت است پس اول در ژن مربوط تغییرات لازم را اعمال می کنیم و سپس ازروی آن ژن مقدار زیادی پروتئین تغییر یافته تولید می شود.

تغییر کلی : در اینجا تغییرات در ژن زیاد است ، مثلاً قسمتی از ژن را بر می داریم یا اینکه بخش هایی از ژن های مربوط به پروتئین های مختلف را کنار هم می گذاریم تا یک پروتئین با ویژگی های جدید و کارایی جدید ایجاد شود.

ازجمله اصلاحات مهم درحوزه مهندسی پروتئین می توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱-افزایش پایداری پروتئین ها در برابر گرما

۲-افزایش پایداری پروتئین ها در برابر تغییرات PH

۳-افزایش حداکثری سرعت واکنش

۴-افزایش تمایل آنزیم برای اتصال به پیش ماده

افزایش پایداری پروتئین ها در برابر گرما به ۳ دلیل اهمیت دارد :۱- افزایش سرعت واکنش: هرچه دما بیشتر، سرعت واکنش هم هم بیشتر می شود۲- کاهش خطر آلودگی میکروبی: میزان رشد میکروب ها در دماهای بالاتر کاهش می یابد و در نتیجه هر چه دما بیشتر، آلودگی میکروبی کمتر۳-عدم نیاز به خنک کردن واکنش : اگر پروتئین به گرما حساس باشد باید محیط واکنش را (مخصوصاً در واکنش های گرما زا که گرما تولید می شود) خنک کرد اما با افزایش پایداری پروتئین ها نسبت به گرما میتوان بدون نیاز به خنک کردن محیط، واکنش مورد نظر را انجام داده. در مورد افزایش تمایل آنزیم به اتصال به پیش ماده نیز می توان آنزیم روبیسکو را مثال زد روبیسکو می تواند هم به اکسیژن متصل شود هم به کربن دی اکسید ، اگر به اکسیژن متصل شود شرایط برای تنفس نوری فراهم می شود و اگر به دی اکسید کربن متصل شود شرایط برای فتوسنتز فراهم می شود. همان طور که می دانیم تنفس نوری باعث کاهش فتوسنتز می شود و چون این امر مطلوب ما نیست می توانیم به کمک مهندسی پروتئین با انجام تغییراتی ، تمایل روبیسکو را برای ترکیب با دی اکسید کربن بیشتر کنیم و با این کار فتوستنز را افزایش می دهیم .

حال به بررسی چند پروتئین می پردازیم که به کمک مهندسی پروتئین تغییر یافته اندکه این تغییر شامل افزایش پایداری در برابر شرایط سخت مثلاً گرماست یا افزایش مدت زمان فعالیت.

۱-آمیلاز : بسیاری از مراحل تولید صنعتی در دماهای بالا انجام می شود به همین دلیل آنزیم های صنعتی باید پایداری گرمایی بالایی داشته باشند.آمیلاز یکی از آنزیم های پر کاربرد در صنعت است که مولکول های نشاسته

را به قطعات کوچکتری تبدیل می کند و در بخش های مختلف صنعتی مثل صنایع غذایی ، نساجی و تولید شوینده ها کاربرد دارد بنابراین نیاز است که آمیلازهای مقاوم در برابر گرما تولید شود که امروزه به کمک زیست فناوری و مهندسی پروتئین این موضوع اتفاق افتاده است .استفاده از این آمیلازها باعث کاهش زمان واکنش ، صرفه جویی اقتصادی و در نتیجه افزایش بهره وری صنعتی می شود. البنه در طبیعت نیزآمیلاز مقاوم به گرما وجود دارد، مثلاً باکتری های گرما دوست در چشمه های آب گرم دارای آمیلازهایی هستند که پایداری زیادی نسبت به گرما دارند.

*آمیلاز در انسان در قسمت بزاق و بخش برون ریز غده ی لوزالمعده یافت می شود.علاوه بر انسان در جانوران دیگر، باکتری و حتی گیاهان نیز آمیلاز یافت می شود.

۲) اینترفرون : از جمله پروتئین‌های دستگاه ایمنی است که باعث ایجاد مقاومت در برابر ویروس ها می شود. داستان از این قرار است که برای تولید انبوه اینترفرون دانشمندان ابتدا از مهندسی ژنتیک استفاده کردند ولی اینترفرون تولید شده از این طریق فعالیت کمتری نسبت به اینترفرون طبیعی دارد. علت این کاهش فعالیت ، تشکیل پیوندهای نادرست در هنگام ساخته شدن آن در یاخته باکتری است، حال برای افزایش فعالیت این پروتئین‌ها، با کمک فرایند مهندسی پروتئین، توالی آمینواسیدهای اینترفرون را طوری تغییر می دهند که یک آمینو اسیدبا آمینواسید دیگری جایگزین شود. این تغییر باعث می شود که فعالیت اینترفرون ساخته شده توسط مهندسی پروتئین به اندازه فعالیت اینترفرون طبیعی شود و از آن پایدارتر هم شود.

پس با ۳ دسته اینترفرون در این فصل آشنا شدیم :

۱-اینترفرون طبیعی: این نوع پروتئین در بدن جانوران مثلاً انسان تولید می شود و فعالیت آن و پایداری آن معمولی است

۲-اینترفرون ساخته شده توسط مهندسی ژنتیک : این نوع پروتئین از طریق مهندسی ژنتیک در یاخته میزبان مثلاً باکتری ساخته می شود و دارای پایداری معمولی و برابر با اینترفرون طبیعی است ولی فعالیت آن از اینترفرون طبیعی کمتر است .

۳-اینترفرون ساخته شده با مهندسی پروتئین :این نوع اینترفرون از طریق مهندسی در یاخته میزان مثلاً باکتری ساخته می شود و فعالیت آن به اندازه پروتئین طبیعی می باشد ولی پایداری آن پروتئین طبیعی بیشتر است افزایش پایداری در نگهداری طولانی مدت پروتئین هایی که به عنوان دارو استفاده می شوند، اهمیت زیادی دارد.

پلاسمین : فرایند تشکیل لخته ، یک فرایند زیستی مهم است که از ادامه خونریزی جلوگیری می کند، اما همین فرایند لخته اگردر رگ های اندام های حیاتی ایجاد شود خطراتی به دنبال خواهد داشت مثلاً تشکیل لخته در

سرخرگ های شش، مغزو ماهیچه قلب به ترتیب منجر به بسته شدن رگ های شش ، سکته مغزی، و سکته قلبی می شود که بسیار خطرناک است و می تواند باعث مرگ شود. لخته ها به طور طبیعی در بدن توسط آنزیمی به نام پلاسمین تجزیه می شوند، پلاسمین کاربرد درمانی دارد اما مدت اثر آن در پلاسما خیلی کوتاه است. با استفاده از فناوری مهندسی پروتئین ، با جانشینی یک آمینواسید پلاسمین با آمینواسید دیگری در توالی آن ، باعث می شود که مدت زمان فعالیت این آنزیم در پلاسما (خوناب) بیشترشود و اثرات درمانی آن نیز افزایش یابد.

درپلاسمین تولید شده توسط مهندسی پروتئین همانند اینترفرون تولید شده توسط مهندسی پروتئین جایگزین یک آمینواسید با آمینواسید دیگر باعث بهبود عملکرد آنها در مقایسه با پلاسمین و اینترفرون تولید شده توسط مهندسی ژنتیک شده است .

ترکیب بسته شدن رگ‌ها علاوه بر لخته شدن خون می تواند توسط عوامل دیگری نیز رخ دهد مثلاً در زیست دهم خواندید که سخت شدن دیواره رگ ها(تصلب شرایین) در رگ هایی مثل سرخرگ های اکلیلی قلب می تواند باعث ایجاد سکته قلبی شود. یادت باشه پلاسمین و اینترفرون تولید شده در مهندسی پروتئین استفاده دارویی دارند ولی آمیلاز در صنعت مورد استفاده قرار می گیرد.

مهندسی بافت: از دست رفتن بافت به دلیل آسیب یا بیماری ، باعث دشواری زندگی و متحمل شدن هزینه بالای اقتصادی و اجتماعی می شود. بنابراین دانشمندان با کمک فناوری مهندسی بافت سعی می کنند با تولید و پیوند بافت و اعضا به این افراد کمک کنند. مثلاً در مورد سوختگی وسیع درپوست اگرپوست نتواند خودش را ترمیم کند لازم است که پیوند پوست ازجایی دیگر رخ دهد. یعنی یا ۱-یک فرد مناسب برای اهدای پوست پیدا شود(فردی که پروتئین هاو کربوهیدرات های پوستش شباهت زیادی به فرد گیرنده داشته باشد تابدن از طریق دستگاه ایمنی پیوند را پس نزند) یا ۲-وسعت سوختگی زیاد نباشد و بتوانیم پوست را از جای دیگری از بدن فرد بیمار برداریم و با این کار قسمت آسیب دیده را ترمیم کنیم (چون اگروسعت سوختگی زیاد باشد نیاز است که برای پیوند پوست، قسمت زیادی از پوست یک جای دیگربدن را برداریم و در واقع یه جایی رو درست می کنیم به قیمت خراب کردن قسمتی دیگر که این کار اشکال دارد).

حال اگر این دو شرط وجود نداشته باشد میدویم سراغ مهندسی بافت برای تولید یاخته های پوست. در پوست یاخته هایی وجود دارد که توانایی تکثیر زیادی دارند و می توانند به انواع یاخته های پوست تمایز پیدا کنند.در مهندسی بافت از این یاخته ها استفاده فراوانی می شود .

*دقت کنید که پوست یک اندام است نه بافت چون ازانواع مختلفی بافت تشکیل شده است . درمورد بحث تولید اعضا می توان به بازسازی لاله گوش و بینی اشاره کرد. جراحان بازسازی کننده چهره می توانند با کمک مهندسی بافت از یاخته های غضروفی برای تولید لاله گوش استفاده کنند. در این روش یاخته های غضروفی را در محیط

کشت روی داربست مناسب تکثیر می کنند و غضروف جدید را برای بازسازی اندام آسیب دیده تولید می کنند.
*طبق حاشیه کتاب ساخته شدن غضروف گوش با مهندسی بافت ۲ هفته طول کشیده است.

ترکیب در زیست دهم خواندید که غضروف نوعی بافت پیوندی است و دارای ماده زمینه ای با رشته های کشسان و کلاژن است که در آن مقدار رشته های کشسان از کلاژن بیشتر است.

یاخته های بنیادی و مهندسی بافت :

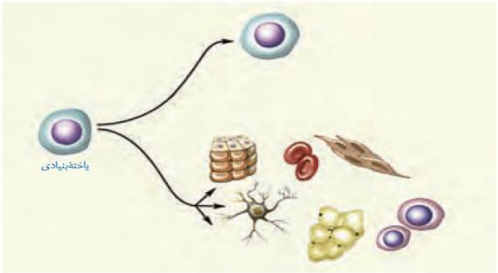
برای تولید بافت در مهندسی بافت دو منشا سلولی وجود دارد:

۱- یاخته های همان بافت: مثلاً در مثال تولید غضروف گوش ما از یاخته های تمایز یافته خود بافت غضروف برای تولید لاله گوش استفاده کردیم.

۲-یاخته های بنیادی: برخی از یاخته ها مثل ماهیچه ای و یاخته عصبی در محیط کشت به مقدار کم تکثیر می شوند یا اصلاً تکثیر نمی شوند. برای همین از یاخته های بنیادی برای تولید بافت مورد نظر استفاده می کنیم .

*یاخته های بنیادی سلول هایی تمایز نیافته با قدرت تکثیر بالا می باشند و می توانند به انواعی از یاخته ها و بافت ها تمایز پیدا کنند. انواع مختلفی از یاخته های بنیادی وجود دارد : ۱-یاخته بنیادی بالغ۲-یاخته های بنیادی مورولا ۳-یاخته های بنیادی جنینی(یاخته های توده داخلی بلاستولا)

یاخته های بنیادی بالغ : این یاخته ها درون بافت های مختلف بدن وجود دارند و برخلاف یاخته های بنیادی جنینی (که توانایی تبدیل به همه ی انواع یاخته ها را دارند) توانایی تبدیل شدن به انواع محدودتری یاخته را دارند. مثلاً یاخته های بنیادی کبد می توانند تکثیر شوند و به یاخته کبدی یا یاخته ی مجرای صفراوی تمایز پیدا کنند. یا مثلاً انواعی از یاخته های بنیادی در مغز استخوان وجود دارد. با دو نوع آن در زیست دهم آشنا شده اید. یاخته های بنیادی لنفوئیدی و یاخته های بنیادی میلوئیدی که انواع مختلف یاخته های خونی و گرده ها را به وجود می آورند. انواع دیگری نیز از یاخته های بنیادی در مغز استخوان وجود دارد که می توانند به رگ های خونی ، ماهیچه اسکلتی و قلبی و یاخته های عصبی و یاخته های استخوانی و نیز اندام های مختلف تمایز یابند.



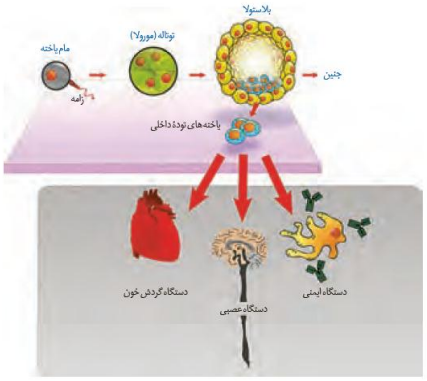
شکل ۸ــ یاخته‌های بنیادی توانایی تکثیر و به‌وجود آوردن یاخته‌های مشابه خود؛ و نیز توانایی تبدیل شدن به سایر یاخته‌ها را دارند.

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

یاخته های بنیادی جنینی و یاخته های بنیادی مورولا: (که در زیست یازدهم خوانده ایم که)یاخته های تخم حدود ۳۶ ساعت بعد از لقاح تقسیم های میتوز را شروع می کند و بعد از ۴ نسل تقسیم به مورولا یا توتاله تبدیل می شود. مورولا توده ای توپر است در لوله رحمی به سمت رحم حرکت می کند. با رسیدن به رحم، به شکل یک کره تو خالی در می آید که درون آن با مایعات پر شده و بلاستوسیت نام دارد. بلاستوسیت دو قسمت دارد: تروفوپلاست که لایه خارجی آن است و یاخته های توده درونی. یاخته های بنیادی مورولا قدرت تمایز بیشتری نسبت به یاخته های بنیادی جنینی(یاخته هایی توده درونی بلاستوسیت) دارند و می توانند انواع یاخته های جنینی و خارج جنینی (جفت و پرده ها) تمایز پیدا کنند در حالی که یاخته های توده درونی بلاستوسیت فقط می توانند به انواع یاخته های بدن جنین متمایز شوند و توانایی ایجاد جفت و پرده را ندارند. * دقت شود که طبق متن کتاب به سلولهای بنیادی مورولا، یاخته بنیادی جنینی نمی گوییم و منظور از یاخته های بنیادی جنینی همان یاخته های توده درونی بلاستوسیت است.

یاخته های بنیادی جنینی که در آزمایشگاه استفاده می شود همان یاخته های توده درونی بلاستوسیت می باشند. این یاخته نه تنها قادر به تشکیل همه‌ی بافت های بدن جنین می باشند بلکه اگر در مراحل اولیه جنینی جداسازی شوند می توانند یک جنین کامل را تشکیل دهند.

* توجه شود که تمایز چنین یاخته هایی هنوز نمی تواند به گونه ای تنظیم شود که همه انواع یاخته هایی را که در بدن جنین تولید می شود در شرایط آزمایشگاهی نیز ایجاد شود. به عبارتی ساده تر در بدن جنین این یاخته های بنیادی همه ی انواع بافت ها را به وجود می آورند ولی در آزمایشگاه می توانند بسیاری از یاخته های مورد نظر را تولید کنند.



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

* ترکیب* در زیست یازدهم خواندیم که یاخته هایی که به طور موقت یا دائم تکثیر نمی شوند(مثل یاخته های ماهیچه ای و عصبی) در مرحله ای از چرخه سلولی به نام .G به سر می برند. یاخته هایی که در .G هستند چون تکثیر نمی شوند پس برای مهندسی بافت و تولید یاخته و بافت در محیط آزمایشگاه کارایی چندانی ندارند.

* این موضوع که یاخته بنیادی به چه یاخته و بافتی تمایز یابد بستگی به نحوه تنظیم بیان ژن در آن دارد. یعنی در یاخته ها، ژن های خاصی روشن و ژن های خاصی خاموش می شوند و این موضوع یعنی تنظیم بیان ژن تعیین کننده صفات و نوع یاخته ها می باشد.

* ترکیب* در گیاهان نیز یاخته های بنیادی وجود دارند که مریستم های رأسی را می سازند. این یاخته ها بافت های گیاه را به وجود می آورند.

کاربردهای زیست فناوری: در این قسمت می خواهیم تاثیر و کاربرد زیست فناوری را در بهبود کیفیت زندگی انسان و حفظ محیط زیست بررسی کنم* کاربرد زیست فناوری در کشاورزی: انسان با استفاده از تحول در کشاورزی نوین توانست مقادیر چشم گیری از محصولات کشاورزی مثل گندم، برنج و ذرت را ایجاد کند. این تحول در کشاورزی نوین نتایجی به دنبال داشت: ۱) استفاده از کودها و سموم شیمیایی ۲) کشت انواع محصول (محصولاتی که قبلاً در یک منطقه مثلاً آذربایجان غربی نبودند ولی با کشاورزی نوین این محصولات هم کاشته شدند.) ۳) استفاده از ماشین ها در کشاورزی ۴) افزایش سطح زیر کشت

این اتفاقات باعث افزایش تولید و پیشرفت در کشاورزی شد ولی این اتفاق جنبه ی منفی هم داشت از جمله اینکه ۱) باعث آلودگی محیط زیست شد(از طریق سموم شیمیایی و ماشین های کشاورزی) ۲) کاهش تنوع ژن (از طریق انتخاب مصنوعی و انتخاب گونه های مطلوب گیاهی برای کشت و کاهش گونه های نامطلوب و کم بازده و در نهایت حذف این گونه ها و در نتیجه کاهش تنوع ژنی) ۳) تخریب جنگل ها و مراتع (برای افزایش زمین های کشاورزی) پس می بینیم تحول کشاورزی نوین هم مفید است هم مضر پس ما نباید برای افزایش محصولات به هر روشی متوسل شویم پس از زیست فناوری استفاده می کنیم.

* یکی از کاربردهای زیست فناوری، تولید گیاهان مقاوم در برابر بعضی آفت هاست. اگر گیاه بتواند در برابر آفت ها مقابله کند، مصرف آفت کش ها کاهش می یابد(یادت باشه کاهش می یابد نه اینکه به صفر برسد) مثلاً برخی از باکتری های خاک زی، پروتئین هایی تولید می کنند که حشرات مضر برای گیاهان زراعی را می کشد و این باکتری ها در مرحله ای از رشد خود (پس نتیجه می گیریم رشد باکتری ها چند مرحله ای است) نوعی پروتئین سمی می سازد که ابتدا به صورت مولکولی غیر فعال است. این مولکول در بدن حشره تحت تاثیر آنزیم های گوارشی موجود در لوله ی گوارش حشره شکسته و فعال می شود و حال این سم فعال شده باعث تخریب یاخته های لوله گوارش و سرانجام مرگ حشره می شود.

برای تولید گیاه مقاوم به آفت این مراحل انجام می شود ۱) جداسازی ژن مربوط به این سم از ژنوم باکتری ۲) همسانه سازی ژن مورد نظر به روش مهندسی ژنتیک (مراحلی که در گفتار اول این فصل گفتیم) ۳) انتقال به گیاه مورد نظر ۴) تولید گیاه تراژن که دارای ژن رمز کننده پروتئین سمی از بین برنده حشره میباشد.

* با کمک روش بالا توانسته اند گیاهانی مثل سویا، پنبه و ذرت مقاوم به آفت تولید کنند. گیاه تراژن که ژن مربوط به پروتئین سمی را داشته باشد، پیش سم غیرفعال را می سازد و حشره با خوردن قسمتی از گیاه، پیش سم وارد لوله ی گوارش آن می شود (و در آنجا فعال می شود) و با تخریب یاخته های لوله گوارش، حشره می میرد.

*پنبه تراژن مقاوم به آفت: در این مورد طبق شکل کتاب کرم به درون غوزه نارس پنبه نفوذ می کند و بنابراین برای از بین بردن آن سم پاشی های متعدد لازم است چوت دسترسی به کرم درون غوزه سخت است از سویی دیگر این اتفاق یعنی سم پاشی های متعدد برای محیط زیست مضر است. امروزه با کمک فناوری زیستی و تولید پنبه های مقاوم به آفت، نیاز به سم پاشی پنبه کاهش پیدا کرده است.

حشره در اثر خوردن قسمتی از گیاه تراژن از بین می رود و فرصت ورود به درون غوزه را از دست می دهد پس نیاز به سم پاشی کاهش می یابد ولی به صفر نمی رسد چون بهرحال برای نابودی بقیه آفات مثل باکتری، قارچ و ... لازم است اندکی سمپاشی صورت گیرد.

شکل ۱۱ـ 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)

* کاربردهای دیگر زیست فناوری در زمینه کشاورزی: اصلاح بذر برای تولید گیاهان مطلوب ۲) تولید گیاهان مقاوم به خشکی و شوری ۳) تنظیم سرعت رسیدن میوه ها (مثلاً از طریق هورمون اتیلن باعث تسریع رسیدن میوه ها می شود) ۴) افزایش ارزش غذایی محصولات. ۵) تولید گیاهان مقاوم به علف کش ها: *همین الان اینو بگم که خواهشاً سموم علف کش رو با سموم آفت کش اشتباه نگیرید*. سموم آفت کش برای نابودی آفت هایی مثل حشرات و قارچ و ... می باشد و این سموم رو به گیاهان اصلی و محصول ده می زنیم تا این گیاهان حفظ شوند ولی سموم علف‌کش را برای از بین بردن گیاهان بی فایده و علف های هرز که در میان گیاهان اصلی و محصول ده می رویند استفاده می کنیم. روش سنتی برای از بین بردن علف های هرز شخم زدن است ولی شخم زدن باعث سست شدن خاک و فرسایش خاک های سطحی می شود پس بهترین کار این است که گیاهان مقاوم به علف کش ها تولید کنیم تا علف های هرز را با استفاده علف کش هایی که راحت در طبیعت تجزیه می شوند، بدون آسیب به گیاه اصلی و محصول ده، از بین ببریم. با این کار به علت عدم شخم زدن زمین فرسایش خاک های سطحی نیز کاهش می یابد.

ترکیب: در فصل یک زیست دهم خواندید که دانشمندان می توانند ژن های موثر در کیفیت و کمیت محصول را از گیاهان خودرو برداشته و به گیاهان زراعی منتقل کنند و با اینکار باعث محصول دهی بیشتر گیاهان زراعی می شوند. دانشمندان برای این کار یعنی ساخت گیاهان تراژن از فناوری مهندسی ژنتیک استفاده می کنند.

* کاربردهای زیست فناوری در پزشکی: ۱) تولید دارو ۲) تولید واکسن ۳) ژن درمانی ۴) تشخیص بیماری

حال به بررسی تک تک این موارد می پردازیم: تولید دارو: در گذشته برای تولید داروها از منابع غیر انسانی استفاده می شد و مشکلی که این منابع غیر انسانی داشتند این بود که احتمال داشت آلوده به بیماری باشد و اثر درمانی پایینی داشته باشد و علاوه بر آن احتمال داشت باعث به وجود آمدن پاسخ ایمنی و تحریک دستگاه ایمنی فرد بیمار شود. اما امروزه با کمک فناوری مهندسی ژنتیک داروهایی مطمئن و موثر تولید می شود و پاسخ ایمنی ایجاد نمی کند به همین دلیل این فناوری جایگاه ویژه ای در صنعت داروسازی دارد. انسولین یکی از داروهایی است که توسط این فناوری تولید می شود. بعضی از انواع بیماری دیابت، یعنی دیابت شیرین نوع I را می توان به وسیله ی دریافت انسولین کنترل کرد(یادت باشه کتاب گفته می توان کنترل کرد نه اینکه بتونیم با کمک انسولین کاملاً درمانش کنیم).

* ترکیب * دیابت شیرین نوع I یک نوع بیماری خود ایمنی است که در آن دستگاه ایمنی به یاخته های سازنده هورمون انسولین حمله می کند و باعث می شود که این هورمون ترشح نشود یا به اندازه کافی ترشح نشود. بعضی از عوارض این بیماری عبارتند از : ۱) افزایش حجم ادرار و وجود گلوکز در آن ۲) احساس تشنگی و نوشیدن

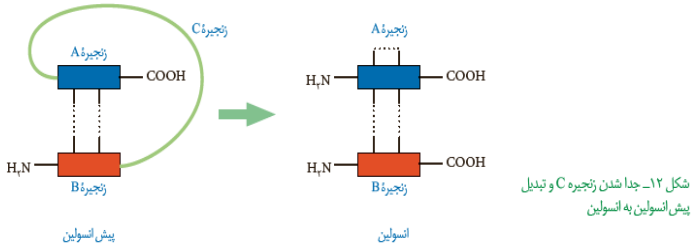
مایعات زیاد ۳) کاهش PH خون ۴) تضعیف سیستم ایمنی بدن ۵) کاهش ذخایر پروتئین و چربی ۶) نارسایی کلیه

حالا به تولید انسولین می پردازیم: در روش قدیمی انسولین از لوزالمعده جانورانی مثل گاو جداسازی و خالص می شود که احتمال دارد باعث ایجاد پاسخ ایمنی و تحریک دستگاه ایمنی در بدن فرد گیرنده شود. روش دیگر استفاده از مهندسی ژنتیک می باشد. مولکول انسولین فعال از دو زنجیره کوتاه پلی پپتیدی به نام های A و B تشکیل شده است که به وسیله پیوندهایی به یکدیگر متصل هستند اما یادت باشه این پیوندها پپتیدی نیستند . در پستانداران از جمله انسان انسولین در ابتدا به صورت یک مولکول پیش هورمون ساخته می شود. این پیش هورمون به صورت یک زنجیره پلی پپتیدی است در واقع نوعی توالی آمینو اسیدی به نام زنجیره C ، دو انتهای زنجیره A و B را به یکدیگر متصل می کند و بدین ترتیب یک زنجیره پلی پپتیدی شامل سه زیر واحد A و B و C تشکیل می شود. طول یا تعداد آمینو اسیدهای مولکول پروتئینی پیش هورمون از طول یا تعداد آمینو اسیدهای هورمون فعال انسولین بیشتر است و آن هم به دلیل وجود زنجیره C در پیش هورمون می باشد.

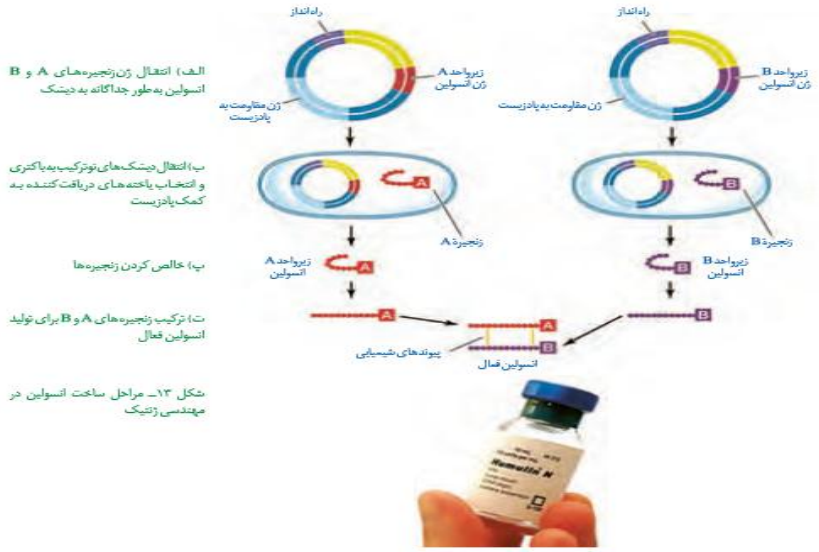
می دانیم باکتری در صورت دریافت ژن انسولین می تواند آن را به روش مهندسی ژنتیک برایمان بسازد . مراحل آن را هم در گفتار یک بررسی کردیم که ژن را برش می دهند بعد از طریق یک ناقل به باکتری منتقل می کنند و باکتری برای ما ژن انسولین را می سازد اما اکنون می خواهیم مراحل ساخت پروتئین انسولین را به روش مهندسی ژنتیک در باکتری بررسی کنیم. مهمترین مرحله در ساخت انسولین به روش مهندسی ژنتیک ، تبدیل انسولین غیر فعال به انسولین فعال است زیرا این تبدیل در باکتری انجام نمی شود. در سال ۱۹۸۳ برای اولین بار دو توالی دنا به صورت جداگانه برای رمز کردن زنجیره های A و B انسولین تولید شد و توسط دیسک به نوعی باکتری منتقل شدند. یعنی ژن رمزکننده زنجیره A وارد یک باکتری شد و ژن رمز کننده زنجیره B وارد باکتری دیگری شد. باکتری رشد می کند و دیسک هم درون باکتری همانند سازی می کند و زیاد می شود . سپس رونویسی هم انجام می شود و توسط ریبوزوم پروکاریوتی زنجیره A و زنجیره B جداگانه تولید می شود. اکنون رشته های پلی پپتیدی ساخته شده از محیط کشت استخراج می شوند و زیرواحدهای A و B انسولین خالص سازی می شوند. چون باکتری نمی تواند پیش هورمون را از طریق جدا شدن زنجیره C به هورمون فعال تبدیل کند پس ما از همان ابتدا زنجیره C را نساختیم و فقط زنجیره های A و B را در باکتری ها به صورت جداگانه تولید کردیم. حال زنجیره های A و B در محیط آزمایشگاه به وسیله پیوندهایی به هم متصل می شوند و انسولین فعال ساخته می شود. در اینجا هم همانند گفتار یک می‌بینیم که از پادزیست برای جداسازی باکتری های دارای دنای نوترکیب از باکتری های فاقد دنای نوترکیب استفاده می شود.

بد نیست به این موضوع هم توجه کنید که بین راه انداز و زیر واحد A ژن انسولین یا زیرواحد B ژن انسولین ، بین راه انداز و ژن مقاومت به پادزیست و بین زیر واحد A یا B ژن انسولین با ژن مقاومت به پادزیست توالی هایی وجود دارد و مستقیماً به هم متصل نیستند(رجوع شود به شکل کتاب) . تولید انسولین فعال در باکتری دیده نمی شود و باکتری فقط می تواند زنجیره های جداگانه A یا B انسولین را تولید کند و انسولین فعال در محیط آزمایشگاه تولید می شود.

حذف زنجیره C برای تبدیل پیش هورمون به هورمون انسولین فعال یک نوع تنظیم بیان ژن پس از ترجمه می باشد . از دیگر مثالهای تنظیم بیان ژن پس از ترجمه می توان به تبدیل پپسینوژن به پپسین در محیط اسیدی معده و همچنین فعال شدن پروتئازهای غیر فعال لوزالمعده در محیط قلیایی دوازدهه و همچنین فعال شدن پروتئین های مکمل بعد از برخورد با میکروب ها و مثال دیگر پیش سم ساخته شده در نوعی از باکتری های خاک زی که پس از ورود به لوله گوارش حشره فعال می شود، می توان اشاره کرد.



شکل ۱۲ـ جدا شدن زنجیره C و تبدیل پیش انسولین به انسولین



شکل ۱۳ـ مراحل ساخت انسولین در مهندسی ژنتیک

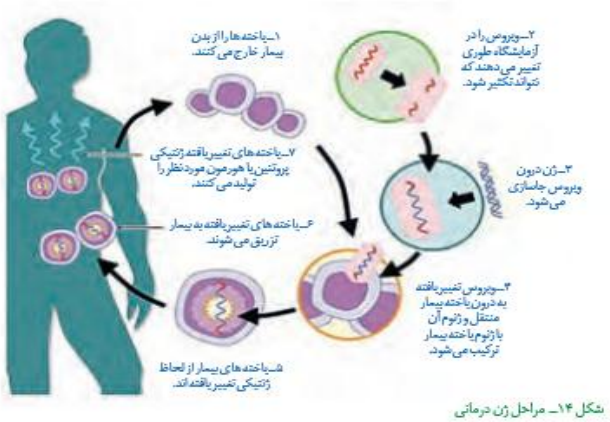
تولید واکسن : در گذشته از طریق ضعیف کردن میکروب ها ، کشتن میکروب ها و یا غیر فعال کردن سموم خالص شده انها واکسن تولید می شد و با وارد کردن این موارد به بدن ، دستگاه ایمنی تحریک می شد و یاخته های خاطره به وجود می آمدند. در این روش که روش سنتی تولید واکسن است ، اگر خطایی در یک مرحله رخ می

داد احتمال ابتلا به بیماری وجود داشت. مثلاً میکروبی که قرار بود ضعیف بشود ، به اندازه کافی ضعیف نشده و در نتیجه باعث بروز بیماری می شد. اما واکسن های تولید شده با مهندسی ژنتیک چنین خطری ندارند . واکسن مناسب واکسنی است که دستگاه ایمنی را برای مقابله با عامل بیماری زا تحریک کند ولی خودش منجر به ایجاد بیماری نشود. در مهندسی ژنتیک، ژن مربوط به آنتی ژن سطحی عامل بیماری زا را به یک باکتری یا ویروس غیر بیماری زا منتقل می کنند. در عامل غیر بیماری زا آنتی ژن های سطحی ساخته می شود (اگر باکتری باشد خودش این کار را می کند ولی اگر ویروس باشد به کمک یاخته میزبانش این کار را خواهد کرد). این آنتی ژن ها در سطح میکروب غیر بیماری زا قرار می گیرند و با ورود میکروب غیر بیماری زا به بدن ، دستگاه ایمنی تحریک می شود و پاسخ ایمنی ایجاد می کند ولی بیماری ایجاد نمی شود چون این آنتی ژن ها فقط دستگاه ایمنی را تحریک می کنند و خودشان به تنهایی بیماری زا نیستند. واکسن نوترکیب ضد هپاتیت B نیز با این روش تولید شده است.

* ترکیب * : در آزمایش گریفیت خواندیم که باکتری های کپسول دار کشته شده باعث ایجاد بیماری نمی شدند درحالی که باکتری کپسول دار سالم که یک نوع میکروب بیماری زا است ایجاد بیماری می کرد.

ژن درمانی : کسانی که با یک بیماری ارثی (ژنتیکی) متولد شده اند و در یک ژن خاص نقص دارند، نمی توانند محصول آن ژن را به شکل نرمال و طبیعی بسازند و در ساخت محصول ژن مورد نظر مشکل دارند. حال برای درمان اینچنین بیماری هایی سه راه وجود دارد: ۱) محصول ژن را به صورت آماده از خارج از بدن به بدن این افراد وارد کنند مثلاً بیماران مبتلا به دیابت شیرین نوع I که باید همواره انسولین دریافت کنند. ۲) استفاده از یاخته های بنیادی: در اینجا یاخته بنیادی حاوی ژن سالم را وارد بدن بیمار می کنیم. البته باید این یاخته ها از فردی گرفته شود که با فرد گیرنده از نظر پروتئین های سطحی بیشترین شباهت را داشته باشد تا دستگاه ایمنی این پیوند یاخته ها را پس نزند. پیوند مغز استخوان مثالی برای این قسمت است . اگر فرد مناسبی برای پیوند پیدا شود، مغز استخوان که دارای یاخته های بنیادی است می تواند مشکل بیمار را تا حدودی حل کند بدین صورت که یاخته بنیادی دارای ژن سالم می تواند به انواع یاخته ها تمایز یابد و نقص بیمار را رفع کند. ۳) ژن درمانی کردن: ژن درمانی که خود مجموعه ای از روش هاست ، یعنی قرار دادن نسخه سالم یک ژن در یاخته های فردی که دارای نسخه ای ناقص از همان ژن است . مراحل ژن درمانی بدین صورت است الف- جداسازی یاخته ها از بدن بیمار و تکثیر آنها در محیط کشت ب- تغییر ویروس و از بین بردن توانایی تکثیر ویروس پ– انتقال ژن سالم از فرد دهنده به درون ویروس و تولید دنای نوترکیب. ت- انتقال ویروس تغییر یافته به درون یاخته های بیمارو ترکیب ژنوم ویروس با ژنوم یاخته بیمار. ج- تغییر یاخته های بیمار از لحاظ ژنتیکی. ح-انتقال یاخته های تغییر یافته به درون بدن بیمار. چ- فعالیت یاخته تغییر یافته و تولید هورمون یا پروتئین مورد نظر .

* اولین ژن درمانی موفقیت آمیز در سال ۱۹۹۰ برای یک دختر بچه ۴ ساله ، دارای نوعی نقص ژنی ، انجام شد. این ژن جهش یافته نمی توانست یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی را بسازد (پس یادتون باشه این پروتئین که قرار بود تولید بشه یک آنزیمه نه یک پروتئین دفاعی، خیلی از بچه ها به اشتباه فکر می کنند که این پروتئین جزو پروتئین های دفاعی مثل اینترفرونه درحالی که جزو آنزیم ها محسوب می شه) . برای درمان این دختر بچه ابتدا لنفوسیت ها را از خون بیمار جدا کردند و در محیط کشت تکثیر دادند. سپس نسخه ای از ژن سالم را به لنفوسیت های دارای ژن معیوب منتقل کردند و سپس لنفوسیت ها را به بدن بیمار برگرداندند. اگر چه این یاخته های تغییر یافته توانستند آنزیم مورد نظر بدن را بسازند ولی چون قدرت بقای زیادی ندارند(قدرت بقا دارند ولی زیاد نیست !) لازم بود بیمار به طور متناوب لنفوسیت های مهندسی شده را دریافت کند . این رو هم در نظر داشته باشید طبق متن کتاب ما خود یاخته های دارای ژن معیوب را خارج کردیم نه اینکه ژن معیوب را از بدن خارج کنیم !



شکل ۱۴ـ مراحل ژن درمانی

تشخیص بیماری: برای درمان موفقیت آمیز یک بیماری ، تشخیص اولیه و شناخت دقیق آن بسیار مهم است. علاوه بر روشهای تشخیصی رایج مثل آزمایش خون و آزمایش ادرار روشهای دیگری مثل فناوری مبتنی بر دنا نیز در تشخیص بیماری نقش مهمی دارند. وقتی علائم بیماری در بدن ظاهر شده باشد تشخیص بیماری ساده است ولی وقتی که هنوز علائم ظاهر نشده اند و میزان عامل بیماری زا در بدن پایین است تشخیص بیماری با روش های رایج و سنتی مشکل است اینجاست که زیست فناوری در نقش یک قهرمان ظاهر می شود و با تشخیص نوکلئیک اسید عامل بیماری زا می تواند به وجود آن در بدن پی ببرد و بیماری را تشخیص دهد. مثلاً در مورد بیماری ایدز می دانیم بیماری خطرناکی است و هنوز درمان قطعی برای آن وجود ندارد.

* ترکیب * : در مورد ایدز می دانید که یک بیماری ویروسی است و از طریق خون و فراورده های خونی و یا از طریق برخی مایعات بدن منتقل می شود . این بیماری دوره نهفتگی نسبتاً طولانی دارد و ممکن است بین ۶ ماه تا ۱۵ سال این دوره طول بکشد. در طی این مدت فرد از بیماری خود خبری ندارد و ممکن است این بیماری را به افراد سالم نیز منتقل کند. یاخته های هدف این ویروس لنفوسیت های T کمک کننده اند که با تخریب این

یاخته ها، سیستم ایمنی فرد به شدت ضعیف می شود و فرد بیمار توانایی مقابله با عوامل بیماری زا را از دست می دهد. برای تشخیص ایدز در مراحل اولیه ، دنای موجود در خون فرد مشکوک را استخراج می کنند . دنای استخراج شده شامل دنای یاخته های بدن فرد و احتمالاً دنای ویروس است. سپس با استفاده از روش های زیست فناوری دنای ویروس تشخیص داده می شود. تشخیص زود هنگام بیماری مخصوصاً بیماری هایی مثل ایدز که دوره نهفتگی طولانی دارند اهمیت زیادی دارد زیرا باعث می شود بدون اتلاف وقت ، اقدامات درمانی برای فرد بیمار و پیشگیری لازم برای جلوگیری از انتقال ویروس به افراد سالم صورت گیرد. همچنین زیست فناوری در تشخیص ژن های جهش یافته در بیماران مستعد به سرطان ، در مسائل پزشکی قانونی و تحقیقاتی در مورد دنای فسیل ها نیز کاربرد دارد.

اهمیت تولید جانوران تراژنی در زیست فناوری: در قسمت های قبلی با نحوه ایجاد باکتری های تراژن و گیاهان تراژن آشنا شدیم. در اینجا می خواهیم با نحوه ایجاد جانوران تراژن و اهمیت این کار آشنا شویم. دلایل متعددی برای طراحی و تولید جانوران تراژن وجود دارد که می توان به چند مورد زیر اشاره کرد:

۱) مطالعه عملکرد ژن های خاص در بدن مثل ژن های عوامل رشد و نقش انها در رشد بهتر دام ها: در این قسمت می خواهیم عملکرد ژن های خاصی را در بدن مورد بررسی قرار دهیم و با انتقال این ژن ها مثلاً ژن هورمون رشد به گاو ، اثر این ژن را در رشد و بهبود کیفیت گاو بررسی کنیم یعنی به عبارت ساده تر با انتقال این ژن ها می خواهیم جانوران مطلوب تری را پرورش دهیم.

۲) کاربرد آنها به عنوان مدلی برای مطالعه بیماری های انسانی از قبیل انواع سرطان ، آلزایمر و بیماری ام . اس : برای بررسی و آزمون و خطا در مورد بیماری های انسانی و همچنین اثر دارو بر روی بیمار، بهتر است به جای اینکه روی انسانها این آزمون و خطا را انجام دهیم ، جانوران تراژن را ایجاد کنیم و این آزمایش ها را روی آنها انجام دهیم.

ترکیب : در زیست یازدهم خواندیم که در بیماری ام . اس ، دستگاه ایمنی به غلاف میلین اطراف یاخته های عصبی موجود در مغز و نخاع حمله می کند.

۳) تولید پروتئین های انسانی یا داروهای خاص در بدن آنها: به عنوان مثال گاوهای تراژنی می توانند شیر غنی از نوعی پروتئین انسانی تولید کنند که برای انسان نسبت به شیر طبیعی گاو مناسب تر است . کتاب در شکل در مورد مراحل تولید پروتئین های انسانی با استفاده از گوسفند تراژن صحبت کرده است. با همدیگر این مراحل را بررسی می کنیم: ابتدا ژن مربوط به نوعی پروتئین انسانی از ژنوم انسان استخراج می شود و به یک ناقل (در شکل کتاب این ناقل دیسک معرفی شده است) متصل می شود و حالا این دنای نو ترکیب به تخم لقاح یافته گوسفند منتقل می شود. سپس این تخم لقاح یافته تقسیم می شود و با تقسیمات خود جانور کامل را به وجود می آورد.

چون تخم لقاح یافته ژن مربوط به پروتئین ذکر شده را دارد و همه یاخته های هسته دار و زنده بدن گوسفند نیز از تقسیمات این تخم به وجود آمده اند ، پس همه سلول های هسته دار و زنده بدن گوسفند این ژن را دارند و این پروتئین خاص در برخی از یاخته های غدد شیری گوسفند تراژن تولید می شود و این پروتئین در شیر گوسفند تراژن وجود دارد. در قدم آخر این پروتئین خاص یا داروی خاص را از شیر گوسفند تراژن استخراج می کنند و به مصارف خاص خودش می رسد .

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

زیست فناوری و اخلاق: مانند همه دستاوردهای بشر ، استفاده از زیست فناوری هم باید با ملاحظاتی همراه باشد . این ملاحظات جنبه های مختلف اخلاقی ، اجتماعی و ایمنی زیستی را در برمی گیرد. ایمنی زیستی شامل مجموعه ای از تدابیر ، مقررات و روشهایی برای تضمین بهره برداری از این فنون است. قانون ایمنی زیستی به منظور استفاده مناسب از مزایای زیست فناوری و پیشگیری از خطرات احتمالی آن در همه کشورها از جمله ایران به تصویب رسیده است. به هرحال وقتی با استفاده از زیست فناوری تغییری در جانداران ایجاد می کنیم باید حواسمان باشد که خطری برای انسان و محیط زیست و جانداران نداشته باشد. سوالات متعددی درباره نتایج انواع کاربردهای زیست فناوری مطرح بوده و هست. برای پاسخ به این سوالات پژوهش های زیادی در حال انجام است و نتایج این پژوهش ها توسط دانشمندان داوری می شود و در صورت تایید ، از طرف دستگاههای نظارتی مجوز نهایی صادر می شود. تاکنون از نتایج تحقیقات انجام شده درباره زیست فناوری هیچ گزارشی مبتنی بر شواهد

علمی در مورد خطرناک بودن زیست فناوری ارائه نشده است. البته به خاطر حساسیت موضوع باید تحقیقات ادامه یابد.

رسولی

در پناه خدا باشید