* امروزه به کمک روش های زیست فناوری ، تولید پلاستیک های قابل تجزیه با صرف هزینه کمتر ممکن شده است .

این کار با وارد کردن ژن های تولید کننده بسیاری از این نوع مواد ، از باکتری به گیاه(نه از گیاه به باکتری!) امکان پذیر است

* امروزه امکان انتقال ژن های انسان به داخل یاخته های سایر موجودات وجود دارد و همچنین می توان از باکتری ها برای تولید پروتئین های انسانی استفاده کرد

* زیست فناوری : هر گونه فعالیت هوشمندانه آدمی در تولید و بهبود محصولات گوناگون با استفاده از موجود زنده .

روش هایی مانند مهندسی ژنتیک ، مهندسی پروتئین و مهندسی بافت ، در قلمرو زیست فناوری قرار می گیرند

* سه دوره زمانی برای زیست فناوری در نظر می گیرند :

- زیست فناوری سنتی : تولید محصولات تخمیری مانند سرکه ، نان و فراورده های لبنی

- زیست فناوری کلاسیک : تولید موادی مانند پادزیست ها ، آنزیم ها و مواد غذایی با استفاده از روش های تخمیر و کشت ریزجانداران (میکروارگانیسم ها)

- زیست فناوری نوین : این دوره با انتقال ژن از یک ریزجاندار به ریزجاندار دیگر آغاز شد . دانشمندان توانستند با تغییر و اصلاح خصوصیات ریزجانداران، ترکیبات جدید را با مقادیر بیشتر و کارایی بالاتر تولید کنند

نکته : هم در زیست فناوری سنتی و هم کلاسیک ، از روش تخمیر استفاده می شد

نکته : کشت میکروارگانیسم ها در دوره زیست فناوری کلاسیک شروع شد ! البته در تولید محصولات حاصل از زیست فناوری سنتی نیز میکروارگانیسم ها نقش داشتند

* در مهندسی ژنتیک ، قطعه ای از دنای یک یاخته توسط ناقل به یاخته ای دیگر انتقال می یابد . به جانداری (نه صرفا جانور !) که از طریق مهندسی ژنتیک دارای ترکیب جدیدی از مواد ژنتیکی شده است ، جاندار تغییر یافته ژنتیکی یا تراژنی می گویند

دقت کنید در مهندسی ژنتیک ، ژنوم هردو جاندار دریافت کننده و انتقال دهنده ی ژن تغییر می کند اما فقط به جاندار دریافت کننده ژن تراژن یا اصطلاح جاندار تغییر یافته ژنتیکی اطلاق می شود

* این روش با باکتری ها آغاز شد و برای گیاهان و جانوران نیز توسعه یافت

* جداسازی یک یا چند ژن و تکثیر آن ها را همانند سازی دنا می نامند . هدف از این کار ، تولید مقادیر زیادی از دنای خالص است که می تواند برای دست ورزی ، تولید یک ماده بخصوص و یا مطالعه مورد استفاده قرار گیرد

دقت کنید با توجه به مراحل ایجاد گیاهان زراعی تراژنی از طریق مهندسی ژنتیک ، کشت یاخته نوترکیب قبل از مرحله بررسی ایمنی زیستی صورت می گیرد اما کشت و تکثیر گیاه تراژن ، بعد از آن !

مراحل مهندسی ژنتیک :

۱- جداسازی قطعه ای از دنا : به وسیله آنزیم های برش دهنده انجام می شود .

این آنزیم ها در باکتری ها وجود دارند و قسمتی از سامانه دفاعی آنها محسوب می شوند (پس باکتری ها علاوه بر ساختار های محافظتی مثل کپسول ، می توانند از مواد شیمیایی مثل آنزیم ها نیز برای دفاع استفاده کنند !) . این آنزیم ها ، توالی نوکلئوتیدی خاصی در دنا (جایگاه تشخیص آنزیم) را شناسایی کرده و برش می دهند .

در جایگاه تشخیص آنزیم EcoR1 ، توالی نوکلئوتیدهای هر دو رشته دنا از دو سمت مخالف یکسان خوانده می شود (این آنزیم ، پیوند فسفودی استر بین نوکلئوتید A و G را می شکند)

در نتیجه ی برش دنا توسط آنزیم EcoR1 ، انتهایی از مولکول دنا ایجاد می شود که یک رشته آن بلندتر از رشته مقابل است و به آن انتهای چسبنده می گویند .

برای تشکیل انتهای چسبنده ، هم باید پیوند فسفودی استر و هم پیوند هیدروژنی شکسته شود !

استفاده از آنزیم های برش دهنده ، دنا را به قطعات کوتاه تری تبدیل می کند

۲- اتصال قطعه دنا به ناقل و تشکیل دنای نوترکیب : در این مرحله ، قطعه دنای جدا شده به ناقل متصل می شود . ناقل ها مستقل از دنای اصلی همانند سازی می کنند . انواعی از ناقل ها وجود دارند که یک نوع از آن ها دیسَک (پلازمید) های حلقوی باکتریایی می باشد .

دیسَک معمولا درون باکتری ها و بعضی قارچ ها مثل مخمر ها وجود دارد .

به دلیل اینکه ژن های موجود در دیسَک ، در دنای اصلی وجود ندارند (مثل ژن های مقاومت نسبت به پادزیست ها در بسیاری از دیسَک ها) ، دیسَک ها را فام تن کمکی نیز می نامند .

ژن های مقاومت نسبت به پادزیست ها ، به باکتری این توانایی را می دهند که پادزیست ها را به موادی غیرکشنده و قابل استفاده برای خود تبدیل کنند .

فراهوش
گروه مشاوره فراهوش
INSTAGRAM : FARA_HOOSH99
WEB : FARAHOOSH99.IR

نکته : ژن های مقاوم به پادزیست ها ، نه تنها پادزیست را غیرکشنده می کنند ، بلکه آن را برای باکتری قابل استفاده میکنند (تبدیل یک ماده مضر به یک ماده مفید !)

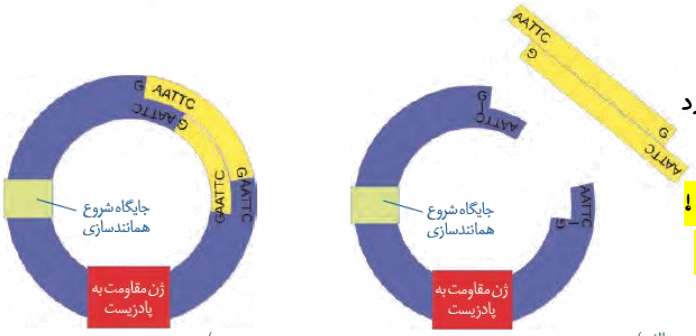
آنزیم مورد استفاده برای برش دادن دیسَک ، باید همان آنزیمی باشد که در جداسازی دنای مورد نظر استفاده شده است (به خاطر اینکه انتها های چسبنده ایجاد شده در دیسَک و قطعه دنا ، مکمل یکدیگر باشند و با هم پیوند تشکیل دهند)

برش دیسَک با آنزیم ، آن را به یک قطعه دنای خطی تبدیل می کند که دارای دو انتهای چسبنده است .

همچنین قطعه دنای خارجی نیز دو انتهای چسبنده دارد

دقت کنید برای جدا کردن قطعه ی دنا از دنای اصلی، به دو جایگاه تشخیص در دنای اصلی نیاز داریم !

دقت کنید برای تشکیل پیوند هیدروژنی بین دیسک و قطعه دنا ، نیازی به آنزیم خاصی نیست اما برای تشکیل پیوند فسفودی استر بین این دو ، از آنزیم لیگاز استفاده می شود



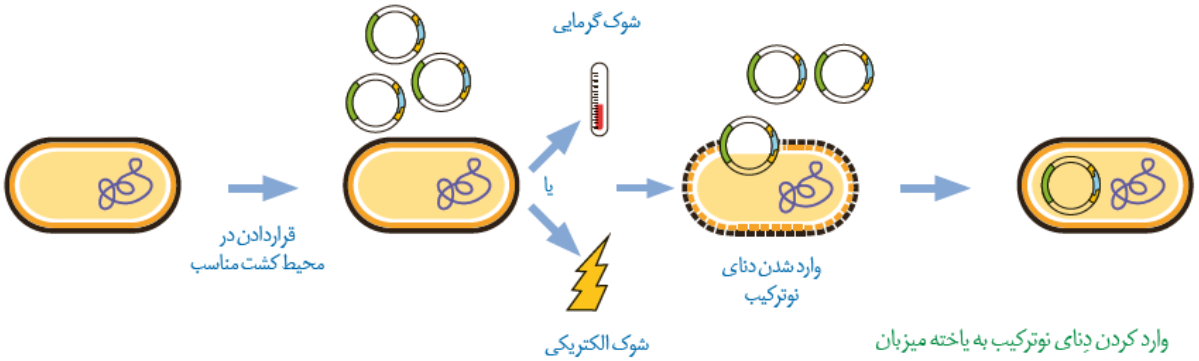
تشکیل دنای نوترکیب: الف) قبل از تأثیر لیگاز و ب) بعد از تأثیر لیگاز

به مجموعه دنای ناقل و ژن جاگذاری شده در آن ، دنای نوترکیب گفته می شود

۳- وارد کردن دنای نوترکیب به یاخته میزبان : در این مرحله ، دنای نوترکیب را به درون یاخته میزبان مثلاً باکتری منتقل می کنند . به این منظور باید در دیواره باکتری منافذی ایجاد شود . این منافذ را می توان با کمک شوک الکتریکی و یا شوک حرارتی همراه با مواد شیمیایی ایجاد کرد . دقت کنید که همه باکتری ها دنای نوترکیب را دریافت نمی کنند

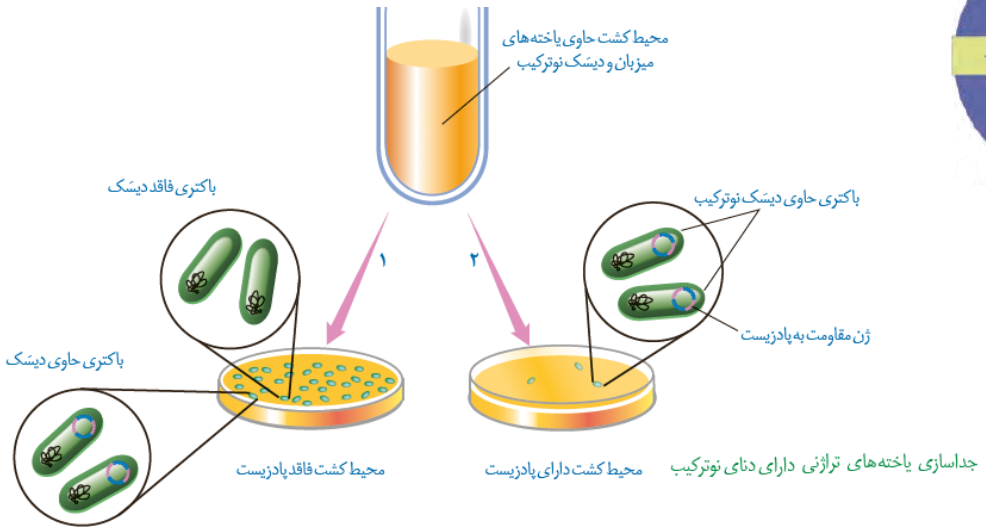
نکته : ایجاد منفذ در دیواره باکتری تنها با شوک حرارتی ایجاد نمی شود و نیاز به مواد شیمیایی نیز دارد

یادآوری : از آزمایش گریفیت به یاد داریم که کپسول باکتری ها در اثر گرما آسیب نمی بیند



۴- جداسازی یاخته های تراژنی : برای انجام این مرحله ، از روش های متفاوتی می توان استفاده کرد (پس یادتون باشه ! تست میتونه اینطور طرح بشه : در مرحله ای که به روش های متفاوتی قابل انجام است ، .....)

یکی از این روش ها استفاده از دیسَکی است که دارای ژن مقاومت به پادزیستی مثل آمپی سیلین است . اگر باکتری ، دنای نوترکیب را دریافت کرده باشد ، در محیط حاوی پادزیست رشد می کند (حتی از پادزیست استفاده می کند !) . باکتری های فاقد دنای نوترکیب ، به دلیل حساسیت به پادزیست ، در چنین محیطی از بین می روند .



* در شرایط مناسب ، باکتری های تراژنی با سرعت بالایی تکثیر می شوند . از دنا های نوترکیب به صورت مستقل از فام تنِ اصلی یاخته، نسخه های متعددی ساخته می شود

نکته : دو فایده تراژنی شدن باکتری ها ۱_ مقاومت نسبت به پادزیست ۲_ سرعت تکثیربالا (به خاطر استفاده مفید از پادزیست)

* امروزه با پیشرفت روش های مهندسی ژنتیک می توان یاخته های دیگری مثل مخمرها ، یاخته های گیاهی و حتی جانوری را با این فرایند تغییر داد

فراهوش
گروه مشاوره فراهوش
INSTAGRAM : FARA_HOOSH99
WEB : FARAHOOSH99.IR

* ایجاد تغییرات دلخواه (کلی یا جزیی) در توالی آمینواسید های یک پروتئین ، مهندسی پروتئین نام دارد که نیازمند شناخت کامل ساختار و عملکرد آن پروتئین است

تغییر جزئی شامل تغییر در رمز یک یا چند آمینواسید در مقایسه با پروتئین طبیعی است

تغییرات عمده ، گسترده تر هستند و می توانند شامل برداشتن قسمتی از ژن یک پروتئین تا ترکیب بخش هایی از ژن های مربوط به پروتئین های متفاوت باشد

* از تغییرات و اصلاحات مفید در فرایند مهندسی پروتئین ها می توان به افزایش پایداری پروتئین در مقابل گرما و تغییر pH ، افزایش حداکثری سرعت واکنش و تمایل آنزیم برای اتصال به پیش ماده اشاره کرد

پروتئین ها	ویژگی ها
آمیلاز ها	پر کاربرد در صنعت – تجزیه نشاسته به قطعات کوچکتر – بسیاری از مراحل تولید صنعتی در دماهای بالا انجام می شود. بنابراین ، استفاده از آمیلاز پایدار در برابر گرما ضرورت دارد (به کمک روش های زیست فناوری) – در طبیعت نیز آمیلاز مقاوم به گرما وجود دارد (در درون باکتری های گرما دوست که در چشمه های آب گرم یافت می شوند)
اینترفرون	از پروتئین های دستگاه ایمنی که فعالیت ضد ویروسی دارد – در ساخته شدن اینترفرون به روش مهندسی ژنتیک ، پیوند های نادرستی تشکیل می شود که باعث تغییر شکل مولکول و کاهش فعالیت آن می شوند – به کمک فرایند مهندسی پروتئین و تغییر جزئی در رمز آمینو اسید ، توالی آمینواسیدهای اینترفرون طوری تغییر می یابد که به جای یکی از آمینواسیدهای آن ، آمینواسید دیگری قرار می گیرد . در نتیجه فعالیت و پایداری آن افزایش می یابد
پلاسمین	لخته های خون در بدن ، به طور طبیعی توسط آنزیم پلاسمین تجزیه می شوند – پلاسمین کاربرد درمانی دارد ، اما مدت اثر آن در پلاسما خیلی کوتاه است – جانشینی یک آمینواسید پلاسمین با آمینواسید دیگری در توالی ، باعث می شود که مدت زمان فعالیت پلاسمایی و اثرات درمانی آن بیشتر شود – تشکیل لخته در سرخرگ های شش ، مغز و ماهیچه قلب به ترتیب منجر به بسته شدن رگ های شش ، سکته مغزی و قلبی می شود

نکته : اینترفرونِ حاصل از مهندسی ژنتیک ، ضعیف بوده و اینترفرون حاصل از مهندسی پروتئین پایدار است

دقّت کنید مهندسی پروتئینِ اینترفرون ، قبل از تکمیل مراحل مهندسی ژنتیک آن انجام می شود

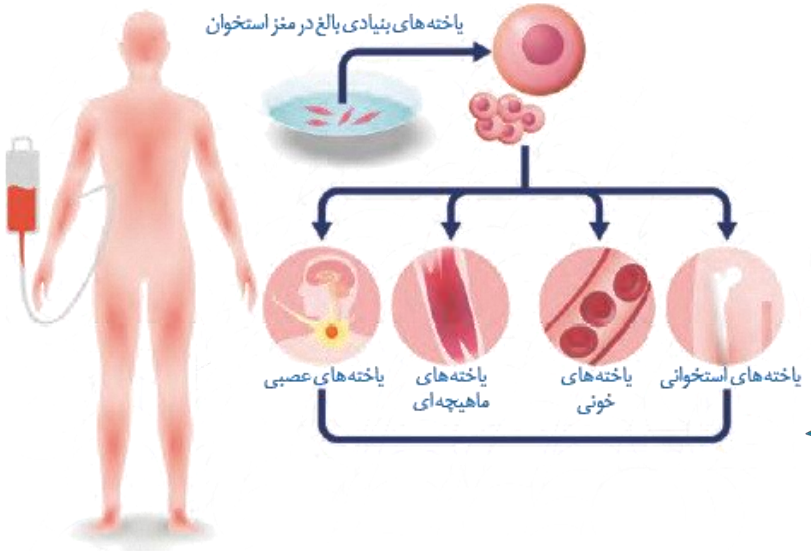
* ثابت شده است که در پوست ، یاخته هایی وجود دارد که توانایی تکثیر زیاد و تمایز به انواع یاخته های پوست را دارند . امروزه در مهندسی بافت ، از این یاخته ها به طور موفقیت آمیزی استفاده می شود

* متخصصان مهندسی بافت ، در زمینه تولید و پیوند اعضا نیز فعالیت می کنند (مثل بازسازی غضروف لاله گوش و بینی) . در این روش ، یاخته های غضروفی را در محیط کشت روی داربست مناسب تکثیر و غضروف جدید را برای بازسازیِ اندام آسیب دیده تولید می کنند

* در مهندسی بافت ، از یاخته های تمایز یافته (مثل یاخته ماهیچه ای) استفاده نمی شود . زیرا در محیط کشت ، با سرعت اندک تکثیر می شوند یا اصلا تکثیر نمی شوند ! بلکه از یاخته های بنیادی جنینی (توده یاخته ای درونی) یا یاخته های بنیادی بالغ (که در بافت ها یافت می شوند) استفاده می شود که سرعت تکثیر بالایی دارند .

* یاخته های بنیادی می توانند تکثیر و به انواع متفاوت یاخته تبدیل شوند (هم میتوزْ تکثیر پیدا کنند و یاخته های شبیه به خودشون رو تولید کنند و هم میتوزْ به سایر انواع یاخته ها تبدیل پیدا کنند)

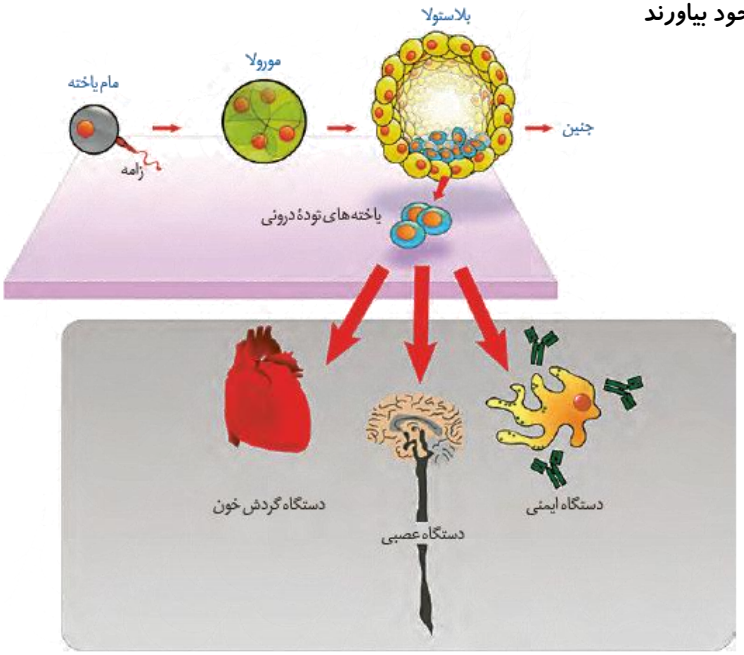
یاخته های بنیادی بالغ : در بافت های مختلف بدن وجود دارند که در محیط کشت تکثیر می شوند . مثلا یاخته های بنیادی کبد می توانند به یاخته های کبدی یا یاخته های مجرای صفراوی (نه کیسه صفرا !) تمایز پیدا کنند . انواعی از یاخته های بنیادی در مغز استخوان وجود دارند که می توانند به رگ های خونی ، ماهیچه اسکلتی و قلبی تمایز پیدا کنند . با یاخته های بنیادی لنفوئیدی و ملوئیدی نیز قبلا آشنا شدیم که به گویچه ها یا پلاکت ها (گرده) تمایز می یابند .



فراهوش
گروه مشاوره فراهوش
INSTAGRAM : FARA_HOOSH99
WEB : FARAHOOSH99.IR

یاخته های بنیادی جنینی : چنین یاخته هایی نه تنها قادر به تشکیل همه بافت های بدن جنین هستند ، بلکه اگر در مراحل اولیه جنینی جداسازی شوند ، می توانند یک جنین کامل را تشکیل دهند

این یاخته ها بعد از جداسازی ، کشت داده و برای تشکیل بسیاری از انواع یاخته ها تحریک می شوند اما تمایز چنین یاخته هایی هنوز نمی تواند به گونه ای تنظیم شود که بتوانند همه انواع یاخته هایی را که در بدن جنین تولید می کنند در شرایط **آزمایشگاهی** نیز به وجود بیاورند



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.

* تحولاتی که در کشاورزی نوین رخ داد ، سبب افزایش محصولات کشاورزی شد اما عواقب زیان باری داشت که آلودگی محیط زیست ، کاهش تنوع ژنی و تخریب جنگل ها و مراتع از نمونه های آن بود . فناوری های جدید زیستی ، شاید بتوانند در این زمینه به بشر کمک کنند .

* **چند مورد از کاربرد های مهندسی ژنتیک برای کشاورزی** : تولید گیاهان مقاوم در برابر آفت ها ، اصلاح بذر برای تولید گیاهان مطلوب ، تولید گیاهان مقاوم به خشکی و شوری ، تنظیم سرعت رسیدن میوه ها و افزایش ارزش غذایی محصولات . تولید گیاهان زراعی مقاوم به علف کش ها نیز از دیگر دستاوردهای این فناوری است.

دقت کنید که با مهندسی ژنتیک ، هم می توان گیاهان مقاوم به آفت ها را تولید کرد و هم گیاهانی که نسبت به علف کش ها مقاوم باشند (البته به طور مجزا ! نه گیاهی که به هردو مقاوم باشه)

* **روش تولید گیاهان مقاوم به آفت** : برخی باکتری های خاکزی وجود دارند که در حین رشد ، پروتئین هایی تولید می کنند که حشرات مضر برای گیاهان زراعی را می کشند . این باکتری ها در مرحله ای از رشد (پس تولید این پروتئین توسط باکتری ، فعالیتی دفاعی نیست بلکه محصول رشد باکتری است !) خود نوعی پروتئین سمی می سازند که ابتدا به صورت مولکولی غیرفعال است. این مولکول ، تحت تأثیر آنزیم های گوارشی موجود در لوله گوارش حشره (طراح میتونه با این کلمه بازی کنه !) شکسته و فعال می شود. سمِ فعال‌شده باعث تخریب یاخته های لوله گوارش و سرانجام مرگ حشره می شود

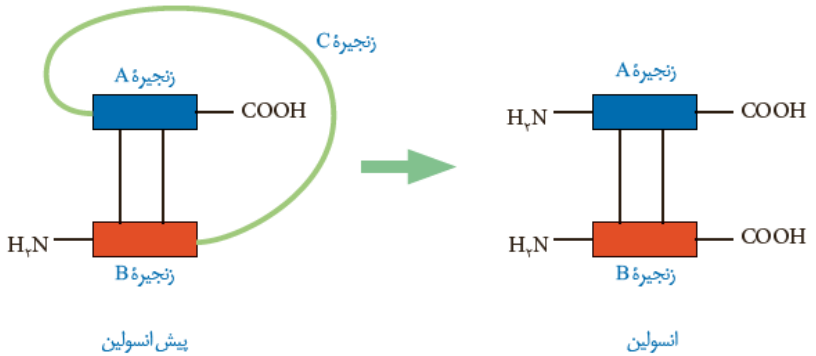
* برای تولید گیاه مقاوم به آفت ، ابتدا ژن مربوط به این سم از ژنوم باکتری جداسازی و پس از همسانه سازی به گیاه مورد نظر انتقال داده می شود . تاکنون با این روش چند نوع گیاه مقاوم مثل ذرت ، پنبه و سویا تولید شده اند .

* نوزاد کرمی شکل (لارو) به درون غوزه پنبه نفوذ می کند و برای از بین بردن آن ، به سم پاشی های متعدد نیاز است . تولید پنبه مقاوم ، نیاز به سم پاشی مزارع پنبه را تا حدود زیادی کاهش می دهد . حشره در اثر خوردن گیاهِ مقاوم شده از بین می رود و فرصت ورود به درون غوزه را از دست می دهد . بنابراین ، نیاز به سم پاشی مزرعه کاهش می یابد (این نیاز به صفر نمی رسد !)

کاربرد های زیست فناوری در پزشکی :

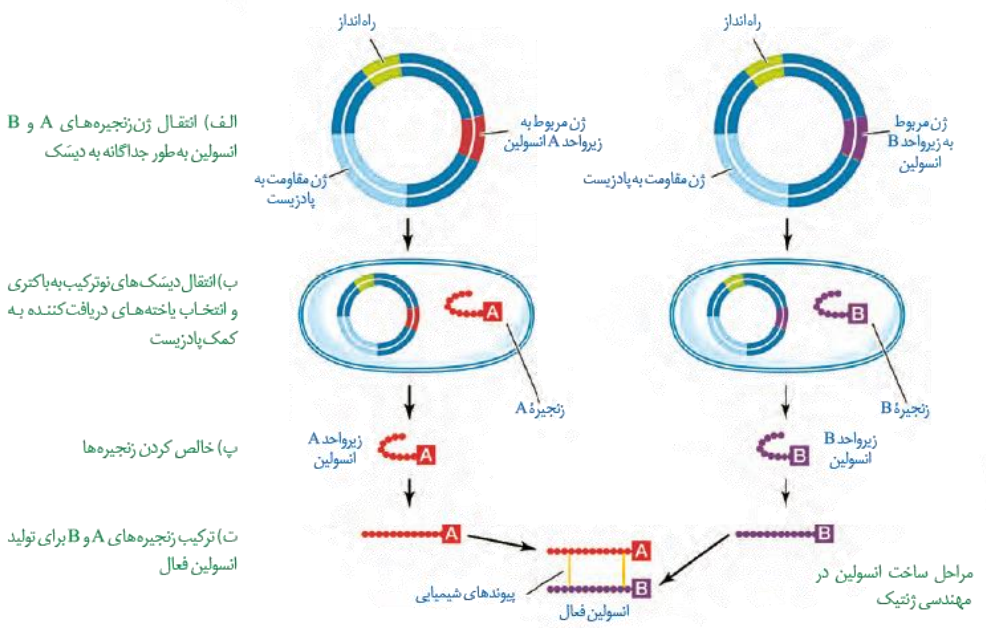
۱- **تولید دارو** : این داروها ، برخلاف فراورده های مشابهی که از منابع غیرانسانی تهیه می شوند ، پاسخ های ایمنی ایجاد نمی کنند . یکی از روش های تهیه انسولین ، جداسازی و خالص کردن آن از لوزالمعده جانورانی مثل گاو است . روش دیگر، استفاده از مهندسی ژنتیک است . مولکول انسولین فعال ، از دو زنجیره کوتاه پلی پپتیدی به نام های A و B تشکیل شده است که به یکدیگر متصل هستند. در پستانداران از جمله انسان ، انسولین به صورت یک مولکول پیش هورمون ساخته می شود .

پیش هورمون به صورت یک زنجیره پلی پپتیدی است و با جدا شدن بخشی از توالی به نام زنجیره C به هورمونِ فعال تبدیل می شود (پس یادتون باشه انسولین فعال ، از ۲ زنجیره تشکیل شده ولی پیش انسولین ، فقط ۱ زنجیره است) ››› مهمترین بخش در مهندسی ژنتیک



نکته : تفاوت های دو شکل را به خاطر بسپارید . در ضمن ، دقت داشته باشید که در هورمون فعال هم ، دو زنجیره به هم اتصال دارند !

* تبدیل پیش هورمون به هورمون ، 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 و توسط دیسک به نوعی باکتری منتقل شدند . سپس ، زنجیره های پلی پپتیدی ساخته شده جمع آوری و در آزمایشگاه به وسیله پیوندهایی به یکدیگر متصل شدند (دقت کنید زنجیره های A و B در باکتری به هم متصل هستن و باکتری نمیتونه اتصال رو بشکنه. الان میگیم در باکتری جدا هستن و در آزمایشگاه متصلشون میکنیم . البته منظور از این اتصال در آزمایشگاه ، زنجیره C نیستا !)



۲- واکسن : واکسن های قبلی ، میکروب ضعیف یاکشته شده ، و یا سم خالص شده ی غیرفعال میکروب بودند . واکسن های تولید شده با روش مهندسی ژنتیک ، خطر بیماری‌زایی ندارند . در این روش، ژن مربوط به آنتی ژن سطحی عامل بیماری زا به یک باکتری یا ویروس غیربیماری زا منتقل می شود . مثال : واکسن نوترکیب ضد هپاتیت B

۳- ژن درمانی : ژن درمانی ، خود مجموعه ای از روش هاست. ژن درمانی یعنی قرار دادن نسخه سالم یک ژن در یاخته های فردی که دارای نسخه ای ناقص از همان ژن است. در این روش یاخته هایی را از بدن بیمار خارج و ژن سالم را با کمک ناقل وارد آنها می کنند. سپس یاخته تغییریافته را به بدن بیمار باز می گردانند (دقت کنید که فرایند ورود ژن سالم به داخل یاخته ، در خارج از بدن صورت می گیرد نه درون بدن !)

* اولین ژن درمانی موفقیت آمیز ، برای یک دختر بچه ۴ ساله که دارای نوعی نقص ژنی بود انجام گرفت . این ژن جهش یافته نمی توانست یک آنزیم مهم دستگاه ایمنی را بسازد .

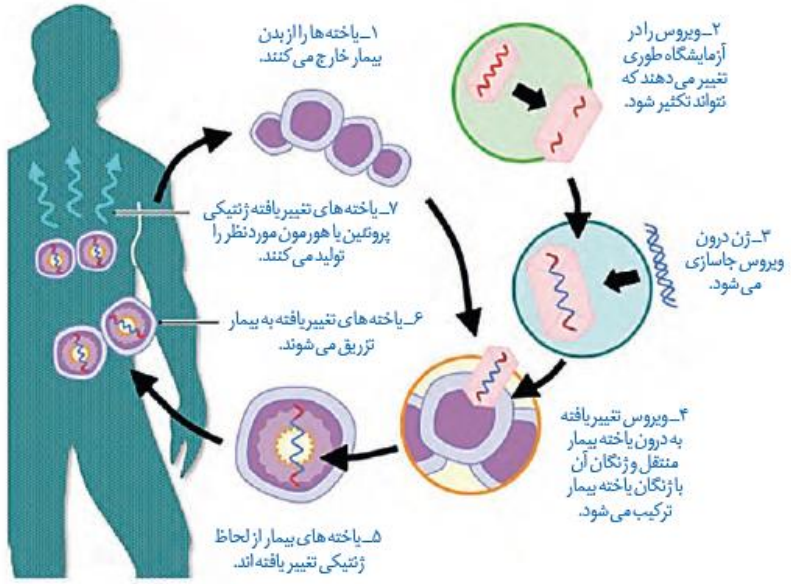
نکته : برای ساخت آنزیم ، به یک ژن نیاز بوده. پس این آنزیم از یک رشته پلی پپتیدی ساخته شده !

دقت کنید ناتوانی دختر بچه در ساخت این آنزیم ، به این خاطر بود که ژن مربوطه جهش یافته بود ؛ نه اینکه اون ژن در بدن فرد وجود نداشته باشه !!

برای درمان آن ، ابتدا لنفوسیت ها را از خون بیمار جدا کردند و در خارج از بدن کشت دادند . سپس نسخه ای از ژن کارآمد را به لنفوسیت ها منتقل و آنها را وارد بدن بیمار کردند. اگرچه این یاخته ها توانستند آنزیم مورد نیاز بدن را بسازند ولی چون قدرت بقای زیادی ندارند ، لازم بود بیمار به طور متناوب لنفوسیت های مهندسی شده را دریافت کند

* برای درمان این افراد ، می توان از روش هایی مثل پیوند مغز استخوان و یا تزریق آنزیم هم استفاده کرد

فراهوش
گروه مشاوره فراهوش
INSTAGRAM : FARA_HOOSH99
WEB : FARAHOOSH99.IR



مراحل ژن درمانی

۴- تشخیص بیماری : امروزه علاوه بر روش های تشخیصی مثل آزمایش خون و ادرار ، با کمک روش های زیست فناوری و شناسایی نوکلئیک اسید عامل بیماری زا می توان به وجود آن در بدن پی برد .

* برای تشخیص ایدز در مراحل اولیه ، دنای موجود در خون فرد مشکوک را استخراج می کنند . دنای استخراج شده شامل دنای یاخته های بدن خود فرد و احتمالاً دنای ساخته شده از رنای ویروس است . سپس با استفاده از روش های زیست فناوری ، دنای ویروس تشخیص داده می شود .

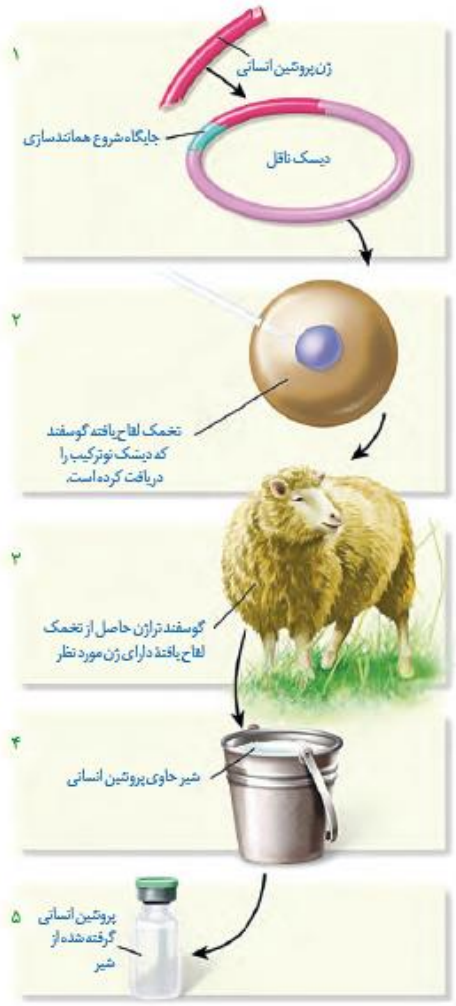
* زیست فناوری در تشخیص ژن های جهش یافته در بیماران مستعد به سرطان ، در مسائل پزشکی قانونی و تحقیقاتی همچون مطالعه در مورد دنای فسیل ها نیز کاربرد دارد

دلایل تولید جانوران تراژن :

– مطالعه عملکرد ژن های خاص در بدن مثل ژن های عوامل رشد و نقش آن ها در رشد بهتر دام ها

– کاربرد آنها به عنوان مدلی برای مطالعه بیماری های انسانی از قبیل انواع سرطان، آلزایمر و بیماری ام اس

– تولید پروتئین های انسانی یا داروهای خاص در بدن آن ها ، به عنوان مثال دام های تراژنی می توانند ، شیر غنی از نوعی پروتئین انسانی تولید کنند که برای انسان نسبت به شیر طبیعی دام ها مناسب تر است



تولید پروتئین های انسانی با استفاده از دام های تراژنی

گروه مشاوره فراهوش
INSTAGRAM : FARA_HOOSH99
WEB : FARAHOOSH99.IR

با تشکر فراوان از دکتر نوید درویش پور بابت همکاری در انجام این پروژه