بسم الله الرحمن الرحیم

انتشارات، شمارهٔ ۴۶۴

مهندسی ژنتیک
و کاربردهای آن

تالیف:
پریتی جوشی

ترجمه:
دکتر علی اصغر اسلمی نژاد
مهندس علی سامعی

www.ketab.ir

سرشناسه: جوشی، پریتی Joshi, Preeti
عنوان و پدیدآور: مهندسی ژنتیک و کاربردهای آن / تألیف پی. جوشی؛ ترجمه علی اصغر اسلمی‌نژاد، علی سامعی.
مشخصات نشر: مشهد: دانشگاه فردوسی (مشهد)، ۱۳۸۵.
مشخصات ظاهری: ۲۴۲ ص.
فروست: (انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد؛ شماره ۴۶۴).
شابک: (ISBN: 964-386-124-4).
شابک :
وضعیت فهرست‌نویسی: فیپا.
یادداشت : عنوان اصلی: Genetic engineering and its applications, 2003.
موضوع : ژنتیک -- مهندسی.
شناسه افزوده : اسلمی‌نژاد، علی اصغر، ۱۳۳۹ - ، مترجم.
شناسه افزوده : سامعی، علی، ، مترجم.
شناسه افزوده : دانشگاه فردوسی مشهد.
رده‌بندی کنگره: QH ۴۴۵ / ج ۹ م ۹ ۱۳۸۵
رده‌بندی دیویی: ۶۶۰ / ۶۵
شماره کتابخانه ملی: ۸۵-۴۱۷۰۷ م

www.ketab.ir

انتشارات، شمارهٔ ۴۶۴

مهندسی ژنتیک و کاربردهای آن

تألیف
پریتی جوشی
ترجمه
دکتر علی اصغر اسلمی‌نژاد ـ مهندس علی سامعی
ویراستار علمی
دکتر محمد رضا نصیری
وزیری، ۲۴۲ صفحه، ۱۰۰۰ نسخه، چاپ سوم، تابستان ۱۳۹۲
امور فنّی و چاپ: مؤسسهٔ چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

بها: ۶۰۰۰۰ ریال

شابک ۴-۱۲۴-۳۸۶-۹۶۴ ISBN: 964-386-124-4

فهرست مطالب

پیش‌گفتار مؤلف ۱۳
پیش‌گفتار مترجمان ۱۴

فصل ۱: مقدمه ۱۵

فصل ۲: سازمان ژن و بیان آن ۱۹
DNA ماده ژنتیکی ۱۹
سازمان و بیان ژن در پروکاریوت‌ها ۲۴
سازمان و بیان ژن در یوکاریوت‌ها ۲۶
توالیهای تکراری ۲۹
ژنهای دارای عملکرد ۲۹

فصل ۳: آنزیمها در مهندسی ژنتیک ۳۱
اندونوکلئازهای محدودالاثر ۳۲
انواع آنزیمهای محدودالاثر ۳۳
آنزیمهای برش‌دهنده نوع I ۳۳
نامگذاری آنزیمهای محدودالاثر ۳۴
جایگاههای هدف ۳۵
ماهیت انتهای برش ۳۶
بریدن و تغییر کنترل شده توسط میزبان ۳۷
فعالیت ستاره ۳۸
ایزواسکیزومرها ۳۹
اندونوکلئازهای محدودالاثر RE در مهندسی ژنتیک ۳۹
لیگازها ۴۱
فعالیت لیگازها ۴۱
منبع DNA لیگازها ۴۴
کاربردهای DNA لیگازها ۴۴
فسفاتاز قلیایی ۴۴
کاربردهای فسفاتاز قلیایی ۴۵
پلی نوکلئوتید کیناز ۴۵
کاربردهای پلی‌نوکلئوتیدکیناز ۴۷
ترانسفراز دی‌اکسی نوکلئوتیدیل انتهایی ۴۷
کاربرد ترانسفراز انتهایی ۴۷
نوکلئاز S1 ..... ۴۸

www.ketab.ir

کاربردهای نوکلئاز S1 ..... ۴۹
DNA پلیمراز I ، هولوآنزیم ۴۹
کاربردهای DNA پلیمراز I ۴۹
DNA پلیمراز I، قطعه کلنو ۴۹
کاربردهای قطعه کلنو ۵۰
DNA پلیمراز T4 ..... ۵۱
کاربردهای DNA پلیمراز T4 ..... ۵۱
DNA پلیمراز TAQ ۵۱
کاربردهای پلیمراز Taq ۵۱
ریبونوکلئازها (RNase) ۵۲
ریبونوکلئاز H (RNase H) ۵۲
کاربردهای ریبونوکلئاز H ۵۲
رونویسی‌کننده معکوس ۵۲
کاربردهای رونویسی‌کننده معکوس ۵۳
پلی (A) پلیمراز ۵۳
دی اکسی ریبونوکلئاز I ۵۳
کاربردهای دی‌اکسی ریبونوکلئاز I ۵۴
اگزونوکلئاز III ۵۴

فصل ۴: حاملهای کلون‌کردن ژن ۵۵
پلاسمیدها ۵۷
همانندسازی پلاسمیدها ۵۷
اندازه پلاسمیدها ۵۸
تعداد نسخه ۵۸
تکثیر پلاسمید ۵۸
انواع پلاسمیدها ۵۹
استخراج DNA پلاسمید ۵۹
کلون‌کردن پلاسمید ۶۰
کلون‌کردن حاملها بر پایه پلاسمیدهای باکتریایی ۶۲
پلاسمید pBR۳۲۲ ..... ۶۲
منبع pBR۳۲۲ ..... ۶۳
مزینهای pBR۳۲۲ ..... ۶۳
DNA پلاسمید Col E1 ..... ۶۶
DNA پلاسمید Col E 1 Amp ۶۶
DNA پلاسمید pBR۳۲۵ ..... ۶۶
DNA پلاسمید pMB۹ ..... ۶۷
پلاسمیدهای pTZ ۶۷
DNA پلاسمید pUB۱۱۰ ..... ۶۸

www.ketab.ir

حاملهای باکتریوفاژی برای E.coli ۶۸
فاژ l به‌عنوان یک حامل ۶۸
حاملهای جایگیری لامبدا ۷۰
حاملهای درون جایگیری لامبدا ۷۰
فاژهای فیلامنتوس به‌عنوان حاملهای کلون‌کردن ۷۱
باکتریوفاژ M13 ۷۱
ساختار ژنتیکی گونه وحشی باکتریوفاژ M13 ۷۲
ساخت حاملهای بر مبنای M13 ۷۳
M13mp1 و M13 mp2 ۷۳
حاملهای هیبرید M13 - پلاسمید ۷۴
pUC 118 و pUC 119 ۷۴
ناقل کلون سازی pEMBL8 ۷۶
کاسمیدها ۷۷
کاسمید pHC79 ۷۸
کاسمید pJB8 ۷۹
کلون سازی با استفاده از یک حامل کاسمید ۷۹
حاملهای ویروس برای سلولهای حیوانی ۷۹
مزایای حاملهای ویروسی ۸۱
ویروس سیمیان ۴۰ (SV40) ۸۱
SV40 به‌عنوان یک حامل ۸۲
سلولهای COS و SV40 ۸۳
ساختار حاملهای SV40 پلاسمید ۸۳
حاملهای مورد استفاده برای سلولهای گیاهی ۸۴
چرخه تکثیر CaMV ۸۶
CaMV به‌عنوان حامل ژن ۸۷
حاملهای دومنظوره ۸۷
پلاسمیدهای اپیزومال مخمر (YEps) ۸۸
مینی کروموزوم‌ها ۸۹
حاملهای بیانگر ۹۰
خشاب‌های ژن ۹۲
توالی‌های تنظیم‌کننده مصنوعی ۹۳

فصل ۵: جداسازی، شناسایی و ساخت ژن ۹۵
جداسازی کل DNA سلولی ۹۵
دورگه سازی اسیدنوکلئیک ۹۶
روشهای نشان‌دارکردن اسیدهای نوکلئیک ۹۷
روشهای نشان‌دارکردن اسیدهای نوکلئیک و کاوشگرها ۹۹
ترجمه بریدگی ۹۹

www.ketab.ir

روش توسعه آغازگر ۱۰۱
روشهای بر پایه RNA پلیمرازها ۱۰۲
نشان‌دار کردن انتهای اسیدهای نوکلئیک ۱۰۳
انتخاب نشان‌دار ۱۰۴
نشان‌دارهای رادیواکتیو ۱۰۵
نشان‌دارهای غیررادیواکتیو ۱۰۵
رسم نقشه ژنها در کروموزومهای خاص ۱۰۶
دورگه‌های سلول سوماتیک ۱۰۷
دورگه‌سازی In-Situ ۱۰۷
نشان‌دارکردن به‌وسیلهٔ ترانسپوزون ۱۰۹
رسم نقشه پیوستگی ژنتیکی ۱۱۰
کتابخانهٔ ژنومی ۱۱۱
دورگه‌سازی کلونی ۱۱۱
دورگه‌سازی پلاگ ۱۱۲
گام‌زنی کروموزومی ۱۱۴
پرش کروموزومی ۱۱۴
برش DNA با استفاده از آنزیمهای محدودالاثر ۱۱۵
ژل الکتروفورز ۱۱۵
روشهای بلاتینگ ۱۱۸
تجزیه و تحلیل DNA به‌وسیلهٔ ساترن بلات ۱۱۸
تجزیه و تحلیل RNA با استفاده از دورگه‌سازی‌های نورترن بلات ۱۱۹
تجزیه و تحلیل پروتئین‌ها با روشهای وسترن بلات ۱۲۰
شناسایی RFLP ها ۱۲۲
رسم نقشه RFLP و انسان‌ها ۱۲۳
توالی‌یابی DNA ۱۲۴
توالی‌یابی با استفاده از روش شیمیایی ۱۲۴
توالی‌یابی به‌وسیلهٔ خاتمه‌دهنده زنجیره ۱۲۵
گام زدن پرایمر ۱۲۷
توالی‌یابی مستقیم DNA با استفاده از PCR (همچنین پیوند به‌وسیلهٔ PCR یا LMPCR
نیز نامیده می‌شود) ۱۲۸
تجزیه و تحلیل توالی DNA به‌طور اتوماتیک (ماشینی) ۱۲۹
برش مکانیکی DNA ۱۳۱
روشهای نقشه‌یابی نسخه‌برداری ۱۳۲
توسعه پرایمر ۱۳۳
نقشه‌برداری S1 ..... ۱۳۳
ساخت cDNA از mRNA ۱۳۴
تهیه cDNA دورشته‌ای ۱۳۶
کتابخانه cDNA ۱۳۸

www.ketab.ir

جستجو برای ژن با استفاده از کامپیوتر ۱۳۸
ساخت شیمیایی DNA ۱۳۹
ساخت شیمیایی ژنهای tRNA ۱۴۰
ساخت ژن tRNA آلانیل مخمر ۱۴۰
ساخت ژن برای یک پیش‌ساز tRNA حقیقی ۱۴۰
ساخت کل یک ژن اینترفرون گلبول سفید انسان ۱۴۱
ماشینهای ساخت ژن ۱۴۱

فصل ۶: کلون کردن ژن خاص ۱۴۵
ایجاد DNA نوترکیب ۱۴۶
DNA لیگاز ۱۴۶
DNA لیگاز T4 ۱۴۶
رابطها ۱۴۸
رابط توقف ۱۴۸
سازش‌دهنده‌ها ۱۴۸
سازش‌دهنده‌های مضاعف ۱۵۰
ترنسفراز انتهایی ۱۵۰
سلولهای مورد استفاده در کلون‌سازی ۱۵۰
کلون‌سازی در پروکاریوت‌ها ۱۵۱
اشریشیاکلی ۱۵۱
گونه‌های استرپتومایسیس ۱۵۲
کلون‌کردن در یوکاریوت‌ها ۱۵۲
تکثیر DNA به‌وسیلهٔ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۱۵۳
روش PCR ۱۵۴
آنزیم ۱۵۶
اختصاصی‌بودن واکنش ۱۵۷
آلودگی واکنش‌های PCR ۱۵۸
ابزار PCR و تجزیه و تحلیل محصولات آن ۱۵۸
انواع مختلف PCR ۱۵۹
PCR معکوس ۱۶۰
PCR لنگر شده ۱۶۰
PCR برای جهش‌زایی مستقیم به‌وسیلهٔ توسعه دارای همپوشانی ۱۶۰
PCR نامتقارن برای توالی‌یابی DNA ۱۶۲
PCR در جای خود ۱۶۳
کاربردهای PCR ۱۶۳
مطالعه چندشکلی DNA با استفاده از PCR ۱۶۳
افزودن ژن با استفاده از PCR ۱۶۴
PCR به‌منظور تأیید وجود ژن انتقال یافته ۱۶۵

www.ketab.ir

ژنتیک انسانی با استفاده از PCR ۱۶۵
انگشت‌نگاری DNA با استفاده از PCR ۱۶۶
PCR در ژن درمانی ۱۶۶

فصل ۷: انتقال یک ژن خاص ۱۶۹
روشهای جنسی ۱۶۹
انتقال ژن با استفاده از دانه‌های گرده و یا لولهٔ گرده ۱۶۹
انکوباسیون (نگهداری) DNA در دانه‌های خشک، جنین‌ها، بافت‌ها یا سلولها ۱۷۰
روشهای غیرجنسی ۱۷۰
الف. انتقال ژن غیراختصاصی ۱۷۰
ب. انتقال ژن اختصاصی ۱۷۱
سیستم دریافت زیستی ۱۷۲
یک حامل اصلاح شده برای مهندسی ژنتیک Agrobacterium tumefaciens ۱۷۲
آلوده شدن با آگروباکتریوم تومی‌فاسینس ۱۷۴
اصول القای تومور ۱۷۴
TDNA (DNA انتقال یافته) ۱۷۵
ناحیه بیماریزا ۱۷۶
حاملهای Ti ضعیف شده ۱۷۶
حاملها ۱۷۷
محدودیت‌ها ۱۷۷
سیستم‌های انتقال مصنوعی ۱۷۸
انتقال ژن با استفاده از بمباران ذره ۱۷۸
انتقال ژن به‌روش ریزتزریقی ۱۸۲
درشت تزریقی ۱۸۴
لیپوفیکاسیون ۱۸۵
رشته سیلیکون کاربید ـ ورتکس ۱۸۶
سونیکاسیون ۱۸۷
الکتروپوریشن ۱۸۷
جذب DNA به کمک پلی‌کاتیون ۱۸۸
روش رسوب اشتراکی Ca-DNA ۱۹۰
اولترا سونیکاسیون ۱۹۰
ریزپرتولیزری U.V. ۱۹۱

فصل ۸: بیان ژنهای القاء شده ۱۹۳
ژن گزارشگر برای بیان موقتی ۱۹۳
ژن β گلوکورونیداز ۱۹۴
ژن لوسیفراز ۱۹۵
ژن ترانسفراز استیل کلرآمفنیکول ۱۹۶

www.ketab.ir

ژن سنتآز نوپالین (nos) ۱۹۶
ژن فسفوترانسفراز نئومایسین (NPTII) ۱۹۷
آنتوسیانین‌ها ۱۹۷
ژن دی هیدروفولات ردوکتاز ۱۹۷
عوامل راه‌انداز ۱۹۸
ژن نشانگر ۱۹۹
غیرفعال‌کردن بیان ژن خارجی ۲۰۰
متیلاسیون و غیرفعال‌کردن ژن انتقال یافته ۲۰۰
تراریختی‌های مضاعف و خاموشی ژن ۲۰۱
سرکوب پس از رونویسی ژن ۲۰۱
بیان ژن در سلولهای تخم زنوپوس ۲۰۱
بیان ژن در سلول تخم بارور پستانداران ۲۰۲

فصل ۹: کاربردهای مهندسی ژنتیک ۲۰۳

الف. گیاهان مهندسی ژنتیک شده ۲۰۳
ایجاد مقاومت به علف‌کشها ۲۰۵
تغییر هدف ۲۰۶
مقاومت نسبت به گلایفوسات ۲۰۶
مقاومت به علف‌کشی سولفونیل اوره و ایمیدازو لینون ۲۰۷
مقاومت به فسفینوتریسین ۲۰۷
مقاومت به آترازین ۲۰۸
سم‌زدایی یا تخریب علف‌کش ۲۰۸
ایجاد مقاومت به آفت با استفاده از مهندسی ژنتیک ۲۰۹
اندوتوکسین‌های باسیلوس تورینجینسیس ۲۰۹
سدوموناس فلئورسنس که توکسین Bt ترشح می‌کند ۲۱۰
مهارکننده‌های پروتئازی ۲۱۰
ژنی برای دیگر متابولیت‌های ثانویه با اثر حشره کشی ۲۱۱
ایجاد مقاومت در برابر عفونت ویروسی به‌وسیلهٔ مهندسی ژنتیک ۲۱۱
ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماریزای قارچی به‌وسیلهٔ مهندسی ژنتیک ۲۱۵
مهندسی ژنتیک و چربی‌های گیاهی ۲۱۶
مهندسی ژنتیک و پروتئینهای ذخیره‌ای ۲۱۸
مهندسی ژنتیک برای تثبیت نیتروژن ۲۱۸
انتقال ژنهای ناد به منظور افزایش محدوده میزبان ۲۱۹
گیاهانی که پلاستیک تولید می‌کنند ۲۱۹
ب. حیوانات مهندسی ژنتیک شده ۲۲۰
موشهای مهندسی ژنتیک شده ۲۲۱
موشهای مهندسی ژنتیک شده در ایمنی‌شناسی ۲۲۱
موشهای مهندسی ژنتیک شده در غدد‌شناسی ۲۲۱

www.ketab.ir

موشهای مهندسی ژنتیک شده و مدلهای حیوانی بیماری انسانی ۲۲۲
موشهای مهندسی ژنتیک شده به‌عنوان مدلهای ژن درمانی ۲۲۲
موشهای مهندسی ژنتیک شده در شیمی درمانی ۲۲۳
ژنهای آنتی‌سنس در موشهای مهندسی ژنتیک شده ۲۲۳
خوکهای مهندسی ژنتیک شده ۲۲۴
گوسفندان مهندسی ژنتیک شده ۲۲۴
خوکهای مهندسی ژنتیک شده ۲۲۵
بزهای مهندسی ژنتیک شده ۲۲۵
ماهیهای مهندسی ژنتیک شده ۲۲۵
جوجه‌های مهندسی ژنتیک شده مقاوم به ویروس ۲۲۶
حیوانات مهندسی ژنتیک شده که می‌توانند پروتئینهای ارزشمند در شیرشان ترشح کنند ۲۲۶
حیوانات مهندسی ژنتیک شده به‌وسیلهٔ پیوند اندامهای بیگانه ۲۲۷
ج. کاربردهای متفرقه ۲۲۷
کاربردهای تجاری ۲۲۹
هورمونهای پروتئینی ۲۲۹
فرآورده‌های خون ۲۲۹
آنزیمها ۲۳۰
پادتن‌ها ۲۳۰
پروتئینهای ایمنی و تشخیص نواقص ایمنی ۲۳۱
حلالها ۲۳۱
پروتئین شیرین ۲۳۱
آنزیمها ۲۳۲
پشه‌های مهندسی ژنتیک شده به‌عنوان واکسیناتور ۲۳۲
درمان به‌وسیلهٔ جایگزینی ژن ۲۳۲
تراریختی کامل حیوان ۲۳۳
درمان سرطان پوست به‌وسیلهٔ ژن درمانی ۲۳۴
درمان آسم با استفاده از DNA آنتی‌سنس ۲۳۴
درمان سرطان به‌وسیلهٔ DNA آنتی‌سنس ۲۳۴
مهار آلودگی محیط زیست ۲۳۵

فصل ۱۰: چشم‌اندازها ۲۳۷

www.ketab.ir

پیش‌گفتار مؤلف

هدف اصلی حیات یک موجود زنده، جاودان ساختن مواد ژنتیکی و خصوصیات ساختمانی سلولهایش است که به این وسیله معمای وراثت انجام می‌پذیرد. مطالعه ژنها و رفتار آنها بسیار اساسی است، زیرا بدون ژنها حیات وجود ندارد. به تازگی توجه علم و فناوری به سوی **ایجاد تغییر**[1] در ساختمان ژنها مطابق نیازها است که به آن مهندسی ژنتیک گویند.

کتاب حاضر مهندسی ژنتیک را به روشی بسیار آسان و معنی‌دار توصیف می‌کند. به‌منظور درک کامل دانشجویان از این رشته، روشهای مورد استفاده در مهندسی ژنتیکی با ذکر جزئیات شرح داده شده است.

این تحقیق حاصل کار شخصی من نبوده و از کتابهای متعدد مرتبط با موضوعهای مطرح شده کمک گرفته‌ام. خود را مدیون نویسندگانی می‌دانم که از مطالبشان استفاده کرده‌ام.

دکتر پرتی جوشی[2]

1. Engineer 2. Dr. Preeti Joshi

www.ketab.ir

پیش‌گفتار مترجمان

خداوند بزرگ را بسیار شاکریم که ما را در ترجمهٔ این کتاب یاری فرمود. مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی دانشی گسترده بوده که کاربردی فراوان در زمینه‌های مختلف دارد. از آنجاکه انتظار می‌رود این دانش راهگشای بشر در قرن جدید باشد و با توجه به کمبود منابع فارسی در این زمینه بر آن شدیم تا کتاب مهندسی ژنتیک و کاربردهای آن نوشتهٔ دکتر پرتی جوشی که کتابی جامع بوده و حاوی اطلاعات ضروری اولیه برای دانش پژوهان این رشته است را ترجمه کنیم. این کتاب مفاهیم پایه و اصول دانش مهندسی ژنتیک را به زبانی ساده بیان نموده است. امید می‌رود محققین محترم و دانشجویان عزیز رشته‌های علوم کشاورزی (علوم دامی، بیوتکنولوژی کشاورزی، اصلاح نباتات، گیاه پزشکی، صنایع غذایی) و رشته‌های علوم پزشکی و زیست‌شناسی بتوانند از این کتاب استفاده لازم را ببرند. در ترجمهٔ اثر سعی شد تا حد امکان از واژه‌های فارسی معادل استفاده شود. ضمناً یادآور می‌شود که در متن اصلی کتاب، بخش منابع وجود نداشت. لذا این کتاب نیز فاقد بخش فوق است و از این بابت پوزش می‌طلبیم.

در این جا لازم است از همکاران گرانقدر آقایان دکتر فرجا... شهریاری و دکتر سیّد حسن مرعشی که ما را در ترجمه این اثر یاری رساندند و همچنین آقای دکتر محمد رضا نصیری که ویرایش علمی این اثر را انجام دادند سپاسگزاری کنیم. همچنین مراتب تشکر خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه و انتشارات دانشگاه فردوسی که امکان چاپ این اثر را فراهم کردند اعلام می‌داریم. معتقدیم که ترجمه این اثر بدون نقص نبوده و مشتاقانه پذیرای پیشنهادهای سازنده اساتید و دانشجویان محترم برای رفع نواقص احتمالی در چاپهای بعدی می‌باشیم.

دکتر علی اصغر اسلمی‌نژاد - مهندس علی سامعی

www.ketab.ir