

فهرست مطالب

پیشگفتار	۹
مقدمه مترجمین	۱۱
اختصارات و مخففها	۱۲
فصل اول: مقدمه ای بر مهندسی ژنتیک	۱۷
فصل دوم : ابزارهای مهندسی ژنتیک	۲۱
۱-۲ اندونوکلئازهای محدودالایثر	۲۱
۱-۱-۲ اندونوکلئازهای نوع I	۲۲
۲-۱-۲ اندونوکلئازهای نوع II	۲۳
۳-۱-۲ اندونوکلئازهای نوع III	۲۵
۴-۱-۲ اندونوکلئازهای نوع III	۲۵
۵-۱-۲ اندونوکلئازهای نوع IV	۲۵
۶-۱-۲ ایزوشیزومرها و نئوشیزومرها	۲۵
۷-۱-۲ فعالیت شاخص	۲۶
۸-۱-۲ نقشه محدود کنندگی	۲۷
۹-۱-۲ پلیمورفیسم طول قطعه محدود شده	۲۷
۲-۲ حاملها	۳۱
۱-۲-۲ پلاسمیدها	۳۲
۲-۲-۲ حاملهای فازئی	۳۶
۳-۲-۲ کاسمیدها و فازمیدها	۴۱
۴-۲-۲ حاملهای تخصصی	۴۴
۳-۲ آنزیمهای تغییر دهنده	۴۸
۱-۳-۲ پلیمرازها	۴۸
۲-۳-۲ لیگازها	۵۱
۳-۳-۲ فسفاتازهای قلیایی	۵۴

۵۵۴-۳-۲ ریکامینازها
۵۵۴-۲ اصول اساسی کلونینگ
۵۵۱-۴-۲ ترانسفورماسیون باکتریایی
۵۷۲-۴-۲ غربالگری نوترکیبها
۶۲۵-۲ قسمت سؤالات
۶۷ فصل سوم : کتابخانه های DNA
۶۷ مقدمه
۶۸ ۱-۳ کتابخانههای DNA ژنومیک
۶۹ ۲-۳ کتابخانه cDNA
۷۱ ۳-۳ غربالگری کتابخانه
۷۱ ۴-۳ نظارت بر رونویسی
۷۲ RT-PCR ۱-۴-۳
۷۳ ۲-۴-۳ نورترن بلاتینگ
۷۷ ۳-۴-۳ سنجش محافظت در برابر نوکلئاز
۷۷ ۴-۴-۳ آنالیز میکرواری
۷۹ ۵-۳ قسمت سؤالات
۸۱ فصل چهارم : تولید و تخلیص پروتئین
۸۱ ۱-۴ حاملهای بیانی و بیان پروتئینهای نوترکیب
۸۲ ۲-۴ رونویسی و ترجمه در آزمایشگاه (<i>In Vitro</i>)
۸۳ ۳-۴ بیان باکتریایی پروتئینها
۸۳ ۴-۴ بیان در مخمر
۸۷ ۵-۴ بیان در سلولهای حشرات
۸۸ ۶-۴ بیان در سلولهای گیاهی
۸۸ ۷-۴ بیان در سلولهای پستانداران
۸۸ ۸-۴ تخلیص پروتئینها
۸۹ ۱-۸-۴ خالص سازی میل ترکیبی توسط ستون نیکل

۸۹.....	۲-۸-۴ خالص سازی میل ترکیبی با استفاده از آنتیبادی منوکلونال و پلیکلونال
۹۱.....	۳-۸-۴ نمایش بیان در سلولها
۹۲.....	۴-۸-۴ تولید پروتئینهای ترکیبی: پروتئینهای فلورسنت سبز
۹۳.....	۹-۴ تغییرات پس از ترجمه پروتئینها
۹۶.....	۱۰-۴ قسمت سوالات
۹۹.....	فصل پنجم: جهش زایی
۹۹.....	۱-۵ جهشزایی
۱۰۰.....	۲-۵ مطالعات حذف
۱۰۴.....	۳-۵ جهش هدایت شده به جایگاه
۱۰۶.....	۴-۵ جهش زایی تصادفی
۱۰۶.....	۵-۵ تکامل هدایت شده، مهندسی پروتئین و مهندسی آنزیم
۱۰۸.....	۶-۵ قسمت سوالات
۱۱۵.....	فصل ششم: میانکنش پروتئین با سایر پروتئینها
۱۱۶.....	۲-۶ رسوب ایمنی توام
۱۱۷.....	۳-۶ روش دو هیبریدی مخمر
۱۲۱.....	۴-۶ انتقال انرژی رزونانسی فلورسانس
۱۲۵.....	۵-۶ قسمت سوالات
۱۲۷.....	فصل هفتم: کشت سلول
۱۲۷.....	مقدمه
۱۲۹.....	۱-۷ دستکاری ژنتیکی سلولها
۱۳۰.....	۱-۷-۱ روشهای الکتریکی
۱۳۰.....	۲-۱-۷ روشهای مکانیکی
۱۳۱.....	۳-۱-۷ روشهای شیمیایی
۱۳۱.....	۴-۱-۷ روشهای ویروسی
۱۳۵.....	۵-۱-۷ روشهای بر پایه لیزر
۱۳۵.....	۲-۷-۲ ژنهای گزارشگر

۱۳۹.....	۳-۷ انواع ترانسفکشن
۱۳۹.....	۱-۳-۷ ترانسفکشن مقطعی
۱۳۹.....	۲-۳-۷ ترانسفکشن پایدار
۱۳۹.....	۳-۳-۷ نوترکیبی و ادغام در ژنوم
۱۴۱.....	۴-۷ میزان بیان
۱۴۱.....	۱-۴-۷ بیان همیشگی
۱۴۱.....	۲-۴-۷ بیان القاء شونده
۱۴۳.....	۵-۷ قسمت سؤالات
۱۴۵.....	فصل هشتم : دستکاری ژنتیکی سلولهای بنیادی و حیوانات
۱۴۶.....	۱-۸ تکنولوژی سلول بنیادی و سلولهای ناکاوت
۱۴۸.....	۱-۱-۸ دستکاری ژنتیک سلولهای بنیادی جنینی
۱۵۰.....	۲-۱-۸ سلولهای بنیادی پرتوان القا شونده (iPSCs)
۱۵۱.....	۲-۸ حیوانات تراریخته
۱۵۷.....	۳-۸ RNA تداخلی و MicroRNAها
۱۵۸.....	۴-۸ کلونینگ حیوانات
۱۶۰.....	۵-۸ Pharm Animals
۱۶۱.....	۶-۸ ژن درمانی
۱۶۴.....	۷-۸ ویرایش ژنوم
۱۶۶.....	۸-۸ قسمت سؤالات
۱۶۷.....	فصل نهم : دستکاری ژنتیکی در گیاهان
۱۶۸.....	۱-۹ تک لپه ها، دو لپه ها و محصولات تجاری
۱۷۱.....	۲-۹ روشهای دستکاری گیاهی
۱۷۱.....	۱-۲-۹ کشت بافت و سلول گیاهی
۱۷۱.....	۲-۲-۹ تفنگ زنی
۱۷۲.....	۳-۲-۹ پروتوپلاست
۱۷۲.....	۴-۲-۹ آگروباکتریوم

۱۷۴.....	۵-۲-۹ بیان گیاهی و حاملهای گزارشگر
۱۷۶.....	۳-۹ آینده گیاهان تراریخته
۱۷۷.....	۴-۹ قسمت سوالات
۱۷۹.....	فصل دهم : امروز و آینده
۱۸۰.....	۱-۱۰ بیوانفورماتیک و دوران اومیکها
۱۸۲.....	۲-۱۰ زیست شناسی سنتتیک و اسیدهای آمینه غیر طبیعی
۱۸۴.....	۳-۱۰ اپتوژنتیک
۱۸۵.....	۴-۱۰ مرحله ی بعد چیست؟
۱۸۶.....	۵-۱۰ قسمت سوالات
۱۸۷.....	منابع
۱۹۴.....	واژه نامه
۲۰۸.....	ضمائم
۲۰۸.....	ضمیمه A: تکنیک های DNA
۲۰۸.....	۱-A ژل الکتروفورز DNA
۲۱۰.....	۲-A بلاتینگ اسید نوکلئیک
۲۱۱.....	۳-A واکنش زنجیره ای پلیمرز
۲۱۲.....	۴-A Real-time PCR
۲۱۳.....	۵-A توالی یابی DNA
۲۱۴.....	۶-A توالی یابی نسل جدید
۲۱۶.....	ضمیمه B: تکنیکهای پروتئین
۲۱۶.....	۱-B SDS-PAGE
۲۱۷.....	۲-B وسترن بلات
۲۱۸.....	۳-B ژل الکتروفورز دو بعدی و پروتئومیکس
۲۲۰.....	۴-B ایمونوفلورسانس و ایمونوهیستوشیمی
۲۲۲.....	ضمیمه C : اطلاعات تکمیلی برای سؤالات پایان فصل
۲۲۲.....	۱-C نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک

۲۲۳.....	۲-C جداول کدهای ژنتیکی
۲۲۴.....	۳-C اسیدهای آمینه
۲۲۵.....	۴-C محاسبات اسیدهای نوکلئیک مورد نظر، اسیدهای آمینه، و پروتئینها
۲۲۶.....	۵-C کشیدگیهای سازگار
۲۲۷.....	۶-C ژنوتیپهای استرینهای باکتریایی و مخمر که غالباً در آزمایشگاه استفاده میشوند
۲۳۱.....	۷-C حساسیت متیلاسیون آنزیم های محدود کننده
۲۳۲.....	۸-C مثالهایی از آنتیبادیهای اولیه و ثانویه
۲۳۳.....	۹-C فلئوروفورها
۲۳۳.....	۱۰-C رادیوایزوتوپها در زیست شناسی
۲۳۶.....	ضمیمه D: پاسخ آخرین سؤالات هر فصل
۲۳۶.....	۱-D پاسخ فصل دوم
۲۳۸.....	۲-D پاسخ های فصل سوم
۲۳۹.....	۳-D پاسخ فصل چهارم
۲۳۹.....	۴-D پاسخ فصل پنجم
۲۴۰.....	۵-D پاسخ فصل ششم
۲۴۱.....	۶-D پاسخ فصل هفتم
۲۴۱.....	۷-D پاسخ فصل نهم

پیشگفتار

امروزه مهندسی ژنتیک و روش‌های آن با بسیاری از شاخه‌های علوم زیستی جانوری و گیاهی پیوند خورده است. به همین سبب دانشجویان مقاطع مختلف تحصیلی در این رشته‌ها نیاز دارند که اصول و قواعد و روش‌های آن را به خوبی فرا گرفته و بکار برند. بدلیل ماهیت کاربردی و آزمایشگاهی مهندسی ژنتیک، بسیاری از منابع در دسترس بگونه‌ای تدوین شده‌اند که اصل را بر مبنای دانستن پیش زمینه‌های اولیه در خصوص روش‌ها قرار داده و به سرعت مجموعه‌ای از تکنیک‌ها را برای کاربری و یادگیری در حین کار آزمایشگاهی برای فراگیران معرفی می‌نمایند. بر این اساس آنچه که کمتر به آن پرداخته می‌شود بیان اصول و منطق مقدماتی است که این روش‌ها بر پایه آن شکل گرفته و بهم ارتباط پیدا می‌کنند.

نویسنده این کتاب، خانم دکتر ایزل اکسان کورتاز^۱ با درک صحیحی که از نیازهای آموزشی دانشجویان مقاطع اولیه دانشگاهی در زمینه درس مرتبط با مهندسی ژنتیک داشته این کتاب را تالیف نموده است. کتاب حاضر در نگاه اول مجموعه انتخاب شده‌ای از تکنیکهای زیربنایی مهندسی ژنتیک است که بصورت پروژه ای برای کار در آزمایشگاه و فراگیری مستقیم طراحی شده است. اما با بررسی دقیقتر می‌توان دید که به گونه‌ای تدوین شده که فراگیران بتوانند در ابتدا متوجه اصل و منطق روش‌های معرفی شده که قرار است بعداً در آزمایشگاه بکار برند و یاد بگیرند، شوند. سپس با مرور قواعد بهم مرتبط روش‌ها و پیوند زدن این مقدمات با دانش قبلی خود در زمینه علوم زیستی، با روالی تسهیل یافته و منطقی تکنیک‌ها را بکار گرفته و فرا گیرند و می‌توان گفت که مهمترین دلیل انتخاب این کتاب برای ترجمه توسط گروه مترجمین همین دیدگاه آموزش پروژه‌ای روش‌های مهندسی ژنتیک مبنی بر یادگیری همزمان اصول پایه و ارتباط منطقی بین روش‌هاست.

ساختار منطقی پروژه‌های آزمایشگاهی مهندسی ژنتیک در این کتاب از ملکول‌های اولیه حیاتی آغاز شده و با معرفی روش‌های آنالیز هضم آنزیمی و تعیین نقشه مرتبط با آن به سمت نحوه ایجاد

^۱ Işıl Aksan Kurnaz

کتابخانه ژنتیکی برپایه این نقشه‌ها پیش می‌رود. سپس به تکنیک‌های بیان ژن‌ها در قالب پروتئین و نحوه خالص سازی آن‌ها می‌پردازد. در ادامه ما را با روش‌های ایجاد موتاسیون و مهندسی پروتئین آشنا می‌کند که خود مقدمه‌ای برای فصل بعدی یعنی تعاملات بین پروتئین‌هاست. تعاملات بین پروتئین- پروتئین زیربنای حیات و عملکرد سلول‌هاست که در فصل بعدی روش‌های کشت آنها معرفی می‌گردد. پس از آشنایی با اصول و تکنیک‌های متداول کشت سلولی، در فصل هشتم منتخبی از روش‌های دستکاری سلول‌های تخصصی بنیادی جانوری برای کاربرد ارائه می‌گردد. با آشنایی و ارزیابی این روش‌ها، فراگیران در فصل نهم آماده می‌شوند تا دانش خود را در زمینه مجموعه جذاب دیگری از روش‌های دستکاری ژنتیکی مانند کاربرد تجهیزات تفنگ ژنی که بیشتر برای سلول‌های گیاهی کاربرد دارد بسط دهند. در فصل انتهایی، دهم، نویسنده کتاب به معرفی دیدگاه‌های کنونی و چشم اندازهای آتی تکنیک‌های مهندسی ژنتیک پرداخته است. در این فصل با روش‌های بیوانفورماتیک و زیست‌شناسی سنتتیک آشنا می‌شویم. این کتاب چهار ضمیمه بسیار خوب و کاربردی نیز دارد که سه ضمیمه اول شامل مجموعه‌ای از روش‌های اختصاصی پایه‌ای DNA و پروتئین بوده و چهارمین ضمیمه حاوی پاسخ سؤالات مفهومی مرتبط با هر فصل می‌باشد که به فهم بهتر مطالب از طریق ارائه نوعی آزمون خود تمرینی کمک می‌کند.

مطالعه این کتاب به دانشجویان مقاطع کارشناسی و پایینتر در گرایش‌های مختلف رشته زیست‌شناسی و علوم زیستی، علوم آزمایشگاهی، رشته‌های پیراپزشکی و همچنین دانشجویان مقاطع بالاتر این رشته‌ها که قبلاً شانس کافی برای یادگیری تکنیک‌های پایه‌ای مهندسی ژنتیک را نداشته‌اند، توصیه می‌گردد.

دکتر محمد رضا خرمی زاده

رئیس مرکز تحقیقات پژوهشگاه غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران

امروزه دانش و فن مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مولکولی در عرصه‌های بسیار متنوع مانند کشاورزی، تغذیه و مواد غذایی، دامپروری، شاخه‌های مختلف علوم پزشکی و صنایع دارویی و زیست‌شناسی، صنایع تخمیری، صنایع نظامی، انرژی، محیط زیست، استفاده‌های بسیار ارزشمندی پیدا کرده است.

تکنیک‌های مهندسی ژنتیک، علاوه بر ایجاد تحول بزرگ در تولید مواد غذایی در زمینه بهداشت نیز انقلاب عظیمی ایجاد کرده است. فراگیری این تکنیک‌ها از یک سو موجب افزایش مهارت و درک مطالب شده و از سوی دیگر موجب بهبود عملکرد فرد در آزمایشگاه و کار با همکاران می‌گردد. کتاب تکنیک‌های مهندسی ژنتیک با شرح ساده و متنوع مباحث تئوری، با ارائه نکات علمی به دانشجویان در کسب مدارک مورد نیاز کمک شایانی می‌کند. با توجه به افزایش رشته‌های دانشگاهی مرتبط با علوم زیستی و نیاز به یک کتاب جامع که با زبان ساده بتواند نکات علمی لازم را ارائه نماید، ترجمه فارسی کتاب فوق را به تمام دانشجویان و اساتید گرامی تقدیم می‌نماییم.

در این ترجمه سعی شده تا ضمن حفظ اصالت و ساختار کتاب اصلی، متن شیوا باشد تا مفاهیم مورد نظر نویسنده با سهولت بیشتری به خوانندگان منتقل شود. شکی نیست با وجود تلاش فراوان جهت به حداقل رساندن اشتباهات، کاستی‌هایی وجود دارد و مترجمین از ارائه نظرات و پیشنهادات خوانندگان استقبال می‌کنند. در پایان از همکاری جناب آقای دکتر امیرحسین تارمچی و سرکار خانم بهناز طاهری که در ترجمه فصولی از این کتاب ما را یاری نمودند، تشکر می‌نماییم.

همچنین هر کدام از ما مترجمین این کتاب، به نوبه خود از همسر و فرزندانمان که با صبر و حوصله ما را در این مسیر همراهی نمودند، سپاسگزاریم.