# چکیده مهندسی ژنتیک

## ۱ ـ کلیات و مراحل مهندسی ژنتیک

### ۱ ـ ۱ ـ درآمد

در دسامبر ۱۹۹۷ (آذرماه ۱۳۷۶ شمسی)، گروهی از دانشمندان ژاپنی در دانشگاه اوزاکا، نخستین پستان‌دار تولیدکننده‌ی نور را به‌وجود آوردند! این محققان با وارد کردن ژن تولید نور از یک عروس دریایی درخشان به سلول‌های تخم (زیگوت) موش، بچه‌موش‌هایی را تولید کردند که زیر اشعه‌ی فرابنفش (UV)، نور سبز فلوئورسانس درخشانی از خود تولید می‌کردند!

این کار تنها با دست‌کاری DNAی موش‌ها امکان‌پذیر شد. به DNAی موش‌های سبزِ دست‌کاری‌شده، «DNA ی نوترکیب» می‌گوییم. چرا که در آن‌ها، DNAی دو گونه جانور بسیار جدا از هم (موش و عروس دریایی)، در هم ادغام شده‌اند (شکل «۱»).

احتمالاً حداقل یک قسمت از سری فیلم‌های معروف «مرد عنکبوتی» را دیده‌اید! این فیلم‌ها براساس کتب مصوّری به همین نام ساخته شده است. داستان مصور مرد عنکبوتی، اولین بار در آگوست ۱۹۶۲ (مرداد ۱۳۴۱شمسی)، در یک نشریه‌ی نوجوانان به چاپ رسید (شکل «۲»).

نکته‌ی جالبی که سیر تکاملی این داستان از آن زمان تا به امروز طی کرده، این است که در آن موقع که هنوز بحث مهندسی ژنتیک مطرح نبود، علّت تبدیل شدن «پیتر پارکر» (قهرمان داستان) به مرد عنکبوتی، گزیده شدن وی توسط یک عنکبوت آلوده به تشعشعات رادیواکتیو بود! در آن زمان که بحث اثرات پرتوها در جهش‌زایی (خصوصاً بعد از دسته گلِ به آب داده شده در هیروشیما و ناکازاکی توسط آمریکایی‌ها) بسیار داغ بود، رادیواکتیویته‌ی موجود در عنکبوت، باعث تغییر یافتن پیتر و تبدیل شدن آن به مرد عنکبوتی بود! ولی در سری جدید فیلم‌های مرد عنکبوتی، در نحوه‌ی تبدیل پیتر به مرد عنکبوتی، پیش‌رفت چشم‌گیری رخ داده است!!!

در این سریِ جدید، که معاصر با اوجِ شکوفایی مهندسی ژنتیک و شبیه‌سازی و ژن‌درمانی و این‌گونه مسایل است، دلیلِ تبدیل شدن قهرمان فیلم به مردِ عنکبوتی، انتقال یک سری از ژن‌های عنکبوت از طریق محل گزش عنکبوت و ورود آن‌ها به گردش خون پیتر است! در حقیقت مرد عنکبوتی نیز پس از این گزش، دارای «**DNAی نوترکیب**» شده است؛ مخلوطی از DNA های انسان و عنکبوت!

اما از عالم داستان‌های علمی ـ تخیلی که بگذریم، در عالم واقعیت چگونه و با چه محدودیتی می‌توان صفات یک جان‌دار را به جان‌داری دیگر منتقل کرد؟ آیا واقعاً می‌توان مرد عنکبوتی، پسر کوسه‌ای و دختر گدازه‌ای و یا چیزی در این مایه‌ها ساخت!!؟ جواب این است: بله، ولی نه تا این حد!! با کمی تخفیف در انتظارات تخیلی‌مان، می‌توان گفت تا همین حالا هم کلی جان‌دار عجیب و غریب که در دنیای طبیعی وجود ندارند، ساخته شده‌اند، تازه حدود ۴ دهه است که محققان توانسته‌اند برخی صفات را از جان‌داری به جان‌دار دیگر منتقل کنند، ولی در همین ۴ دهه نیز پیش‌رفت آن‌ها فوق‌العاده بوده است. وقتی فقط طی ۴ دهه به‌جایی می‌رسند که موش یا گیاه تنباکوی نورانی می‌سازند، یا

**شکل «۱»**

موش‌های سبز فلوئورسانت! دارای DNAی نوترکیب حاوی ژن‌های نورافشان عروس دریایی.

**شکل «۲»**

بخشی از اولین سری کتاب‌های مصور مرد عنکبوتی در سال ۱۹۶۲ (۱۳۴۱ شمسی).

سیب‌زمینی‌ای تولید می‌کنند که وقتی چیپس حاصل از آن را می‌خورید، در واقع، در همان حال، مشغول وارد کردن چند نوع واکسن به بدن خود هستید و تولید بسیاری دیگر از جان‌دارانِ به‌قول معروف شتر ـ گاو ـ پلنگ (!)، پس افق این کار در آینده‌ی نه‌چندان دور، معلوم نیست.

شاید در چند سال آینده، شاهد تولد قاطری صورتی‌رنگ یا آبی‌رنگ با خال‌های سبز و یک جفت بال زیبا و پرشکوه همچون عقاب و دُمی شبیه پری دریایی باشیم! خال‌های سبز این موجودِ عجیب، برای نورافشانی در شب است. با بال‌های قوی خود به‌جای سم‌زدن در مسیرهای صعب‌العبور پرواز می‌کند، هنگامی که به آب می‌رسد، با دمِ شبیهِ پریِ دریاییِ خود با شنا کردن، کلی بار و مسافر را به آن طرف آب می‌برد و از همه مهم‌تر، رنگ صورتی و آبی آن است که در دو مدل زنانه و مردانه به بازار عرضه می‌شود!!! کسی چه می‌داند؟ شاید هم یک روزی همین ایده‌ی ما را بدزدند و بسازند!

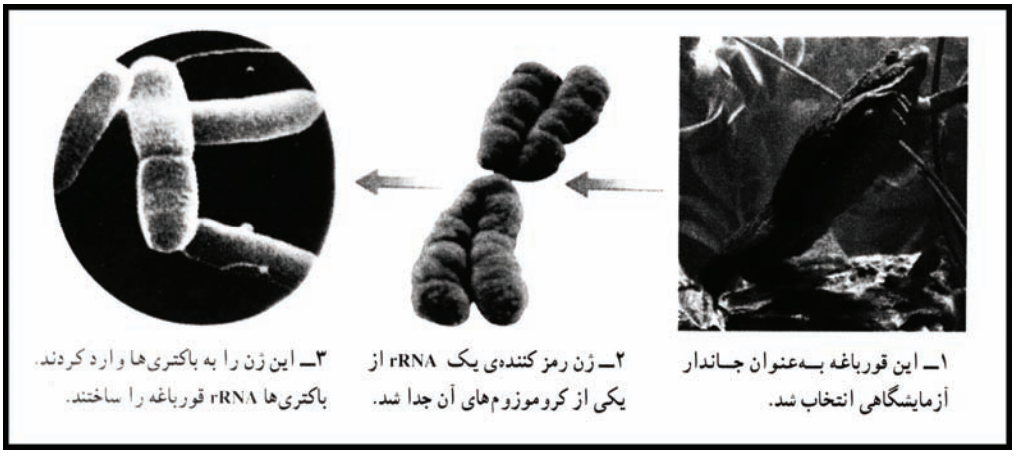
«**تکنولوژی DNAی نوترکیب**» یا همان «**مهندسی ژنتیک**»، تازه، کم‌کم دارد پا می‌گیرد! حال سؤال این است که اصولاً این کار از کی شروع شد؟ اولین جان‌دار ساخته شده توسط مهندسی ژنتیک در چه زمانی و با در اختیار داشتن چه امکاناتی ساخته شد؟ هدف از دست‌کاری ژن‌های جان‌داران چه بود و هست؟ آیا هدف، صرفاً ساختن موجودات عجیب و غریب است!؟ روندِ کاری، برای تغییر ژنتیکی جان‌داران چیست؟ چه ابزارهایی برای این کار درون جعبه‌ی ابزار یک مهندس ژنتیک وجود دارد؟ محدودیت‌ها و دشواری‌های این کار کجاست؟

همه‌ی این‌ها، سؤال‌هایی هستند که پس از مطالعه‌ی بخش‌های بعدی با نام‌های «روند کاری در مهندسی ژنتیک» و «روش‌ها و ابزارهای مهندسی ژنتیک» به پاسخ آن‌ها می‌رسید؛ اما پیش از این که درون جعبه‌ی ابزار مهندسان ژنتیک را بگردیم (!)، سعی کنید کاملاً با روند کاری مهندسی ژنتیک، آشنا شوید. **روند کاری** در این‌جا که معادل فارسی «**Workflow**» است، در حقیقت نوعی **نقشه‌ی راه** یا در اصطلاح کامپیوتری‌ها، **الگوریتم کاری مهندسی ژنتیک** است.

## ۱ ـ ۲ ـ روندِ کاری در مهندسی ژنتیک

در سال ۱۹۷۳، دو دانشمند آلمانی به‌نام‌های «استانلی کوهن» و «هربرت بایر»، آزمایشی را طراحی و اجرا کردند که اولین نمونه‌ی دست‌کاری ژنتیکی یا همان مهندسی ژنتیک بود. آنان **ژن رمزکننده‌ی RNAی ریبوزومی** (rRNA) را از **DNAی نوعی قورباغه‌ی آفریقایی** (قورباغه‌ی پنجه‌دار آفریقایی *Xenopus leavis*)، استخراج و آن را به DNAی **پلازمید** یا **کروموزوم کمکی** باکتری **اشریشیا کُلای** (E.coli) وارد کردند.

باکتری هنگام **رونویسی** از ژن‌های خود، rRNAی قورباغه را نیز می‌سازد. به این ترتیب **باکتری اشریشیا کلای** (E.coli)، اولین جان‌داری است که با روش‌های مهندسی ژنتیک تغییر پیدا کرد و به‌اصطلاح، تحت **دست‌ورزی** (Manipulation) قرار گرفت (شکل «۳»). **این فرایند دست‌ورزی در ژن‌ها، مهندسی ژنتیک نامیده می‌شود.**




**شکل «۳»**

آزمایش معروف کوهن و بایر؛ ساخت اولین جان‌دار دست‌کاری‌شده با مهندسی ژنتیک: باکتری اشریشیا کُلایی که می‌توانست RNAی ریبوزومی (rRNA) نوعی قورباغه‌ی آفریقایی را بسازد.

**۱ ـ ژنی که در نخستین دست‌ورزی ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت، به‌طور طبیعی توسط کدام نوع RNA پلی‌مراز، رونویسی می‌شود؟**

۱) I ۲) III ۳) پروکاریوتی ۴) II

**۲ ـ اولین جان‌داری که به روش مهندسی ژنتیک دچار دست‌ورزی ژنتیکی شد، کدام را نداشت؟**

۱) اپراتور ۲) دیواره‌ی سلولی ۳) فعال کننده ۴) ناحیه‌ی نوکلئوئیدی

**۳ ـ نخستین جان‌دار تغییر یافته در مهندسی ژنتیک، کدام ویژگی را ندارد؟**

۱) تقسیم دوتایی ۲) داشتن مهارکننده‌ی لک ۳) تولید ریبوزوم در هستک ۴) دارا بودن اپراتور

**۴ ـ در اولین جان‌داری که با روش مهندسی ژنتیک به‌دست آمد، کدام ژن قورباغه‌ی پنجه‌دار استفاده شده است؟** *(سنجش ـ ۸۲)*

۱) rRNA ۲) mRNAی اولیه ۳) mRNAی بالغ ۴) tRNA

آزمایش کوهن و بایر به نوبه‌ی خود، نقطه‌ی عطفی در تاریخ ژنتیک مولکولی و بیوتکنولوژی بود. در حقیقت این آزمایش، سرآغاز مسیر بالنده‌ای بود، به‌نام «**مهندسی ژنتیک**»؛ اما ایده‌ی این آزمایش، هدف آن، پیش‌فرض‌ها و مسیر اجرای آن، در ذهن کوهن و بایر به چه صورت بود؟

مراحل کاری (روش علمی) که کوهن و بایر در طول آزمایش خود در نظر گرفته بودند و تا امروز نیز چهارچوب کلی مهندسی ژنتیک را تشکیل می‌دهد، در زیر شرح داده شده است (جزییات فنّی و روش‌های تکنیکی خاص را در بخش «روش‌ها و ابزارها» بررسی می‌کنیم).

آزمایش کوهن و بایر از جنبه‌های متعددی حایز اهمیت است. برای آشنایی با دلایل اهمیت این آزمایش تاریخی، به کد «۲ ـ ۱» در کتابچه‌ی پیوست مراجعه کنید.

## ۱ ـ ۳ ـ نگاهی دقیق به آزمایش کوهن و بایر

**الف) ایده‌ی اولیه‌ی آزمایش:**

آیا می‌توان یک ژن یوکاریوتی (ژن قورباغه) را در یک سیستم پروکاریوتی (باکتری اشریشیا کلای ـ E.coli) بیان کرد؟

**ب) هدف از انجام این آزمایش:**

۱) تولید فراورده‌های ژنی یوکاریوتی در سیستم‌های پروکاریوتی با سرعت و راندمان بالاتر.

۲) ایجاد نخستین جان‌دار دست‌ورزی‌شده با تکنیک‌های مهندسی ژنتیک.

**ج) پیش‌فرض‌ها:**

۱) محل یک ژن خاص (مثلاً ژن rRNA) یوکاریوتی، در جان‌داری مانند قورباغه‌ی آفریقایی مشخص است؛ یعنی معلوم است که بر روی کدام کروموزوم قرار دارد.

۲) در باکتری اشریشیاکلای (E.coli)، علاوه بر کروموزوم اصلی (یک DNAی حلقوی طویل)، تعدادی **کروموزوم‌های کمکی** به‌نام **پلازمید** وجود دارد. یک باکتری می‌تواند پلازمیدهایی را که به‌طور آزاد در محیط کشت قرار دارند، جذب کند و اگر ژن‌های خاصی روی آن‌ها باشد، درون خود بیان کند. به عبارتی می‌توان گفت، از آن‌جا که برای انتقال یک ژن خارجی به یک جان‌دار دیگر، نیاز به «**حامل**» یا «**وکتور**» داریم، در باکتری‌ها از پلازمیدها که می‌توانند نسبتاً راحت جذب سلول شوند، به‌عنوان وکتور یا حامل استفاده می‌کنیم. (در بخش‌های بعدی، وکتورها به تفصیل توضیح داده شده‌اند). در حقیقت یکی از روش‌های ترانسفورماسیون، آن‌گونه که گریفیت در سال ۱۹۲۸ شرح داده بود، از همین طریق است. در این‌جا نیز واژه‌ی ترانسفورماسیون به‌کار می‌رود. به‌علاوه ثابت شده بود که باکتری‌ها می‌توانند مستقیماً با هم به تبادل پلازمید بپردازند.

**پلازمیدها، کروموزوم‌های کمکی** موجود در **بعضی** باکتری‌ها هستند که به‌صورت **DNAهای حلقوی کوچک**، حامل تعدادی ژن می‌باشند. ژن‌های پلازمیدی در کروموزوم اصلی باکتری وجود **ندارند**. توضیح کامل پلازمید در بخش‌های بعدی آمده است.

۳) برخی ژن‌های خاص موجود بر روی پلازمید، مثلاً **ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها**، ابزار مناسبی جهت **جداسازی** و **تشخیص** آن‌ها است.

در کتاب سال سوم دبیرستان با «ترانسفورماسیون» یا «تغییر شکل» آشنا شدید. **پدیده‌ای که طی آن، استرپتوکوکوس نومونیای بدون کپسول، تبدیل به نوع کپسول‌دار آن شد!** نوع بدون کپسول این باکتری که عامل مولد ذات‌الریه است، در واقع با دریافت ژن(های) مسیر بیوشیمیایی تولید کپسول، قدرت ساخت کپسول پلی‌ساکاریدی را پیدا کرده بود.

**د) فرضیه‌ی آزمایش:**

اگر به طریقی بتوان ژن یوکاریوتی مورد نظر را از قورباغه جدا کرد و به پلازمید چسباند و اگر باکتری، پلازمید نوترکیب را که حاوی ژن خارجی قورباغه است، جذب کند، ممکن است در هنگام رونویسی از ژن‌های پلازمید، rRNAی یوکاریوتی نیز، رونویسی شود.