

مهندسی ژنتیک در توکسوپلازماگونه‌دی:

از کلاسیک تا کریسپر

نویسندگان:

دکتر گیتا سعادت نیا

عضو هیات علمی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

مرجان انشاییه

دانشجوی دکتری میکروبیولوژی

سرشناسه	: سعادت‌نیا، گیتا، ۱۳۵۸ (Geita), Saadatnia
عنوان و نام پدیدآور	: مهندسی ژنتیک در توکسوپلازماگونه‌دی: از کلاسیک تا کریسپر / نویسندگان گیتا سعادت‌نیا، مرجان انشاییه .
مشخصات نشر	: تهران، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، ۱۳۹۸
مشخصات ظاهری	: ۲۲۰ ص.: مصور، جدول، نمودار.
شابک	: 978-622-99578-7-5
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
موضوع	: توکسوپلازما گونه‌دی
موضوع	: <i>Toxoplasma gondii</i>
موضوع	: ژنتیک - مهندسی
موضوع	: Genetic engineering
موضوع	: کریسپر. (ژنتیک)
موضوع	: CRISPR (Genetics)
شناسه افزوده	: انشاییه، مرجان، ۱۳۶۵
شناسه افزوده	: سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
رده بندی کنگره	: ۵۸۲.۶
رده بندی دیویی	: ۵۸۱/۴
شماره کتاب‌شناسی ملی	: ۵۸۳۳۷۹۷

سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران



مهندسی ژنتیک در توکسوپلازماگونه‌دی: از کلاسیک تا کریسپر

مؤلف: دکتر گیتا سعادت‌نیا و مرجان انشاییه

ناشر: سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

نویت چاپ: اول

تاریخ چاپ: ۱۳۹۸

شمارگان: ۱۰۰۰ جلد

چاپ و صحافی: پرچین

طراح روی جلد: سمیه عربلو

ویراستار: لیلا اجاقلو

قیمت: ۶۵۰۰۰۰ ریال

نشانی: تهران، احمدآباد مستوفی، بعد از میدان پارسا، خیابان انقلاب، خیابان شهید احسانی‌زاد، صندوق پستی: ۳۷۵۷۵-۱۱۵

تمام حقوق مادی این اثر اعم از چاپ، تکثیر، نسخه‌برداری، ترجمه و مانند این‌ها برای سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران محفوظ است.

الهی چه عزتی فراتر از این که بنده تو باشم؟ و چه فخری بالاتر از این که تو خدای من باشی؟ ادای شکر تو را هیچ زبان نیست و حقیقت وجودت بر هیچ کس عیان نیست، معبود بی همتایی، از من بنده‌ای بساز که خودت دوست داری.

خواجه عبدالله انصاری

کتاب حاضر مجموعه‌ای نسبتاً جامع در خصوص مهندسی ژنتیک در توکسوپلاسماکوندی، از روش کلاسیک تا روش پیشرفته کریسپر است؛ در فصل انتهایی نیز گزیده‌ای از روش‌های آزمایشگاهی مربوط به کار کردن با این انگل مطرح شده است. امید است این نوشتار برای مخاطبان مفید بوده و گامی در جهت ارتقای سطح علمی آنها باشد.

در فصل اول این کتاب به بررسی انواع روش‌های دستکاری ژنتیکی توکسوپلاسماکوندی از گذشته تاکنون پرداخته می‌شود. در این فصل روش‌های متفاوت عنوان شده و توضیحی اجمالی پیرامون هریک داده می‌شود. در فصل دوم در خصوص تاریخ ژنتیک کلاسیک در توکسوپلاسماکوندی و همچنین مطالبی پیرامون بیولوژی این انگل، مراحل زندگی آن و آیزش با سویه‌های مختلف مطرح می‌شود. در فصل سوم، پیرامون ایجاد انگل‌های ترانس ژنتیک، ترانسفورماسیون‌های باند، ترکیبی همولوگ و مطالب مرتبط با این مضامین بحث شده است. در فصل چهارم به دلیل اهمیت و همچنین جدد بودن سیستم کریسپر، به معرفی کامل آن و انواع کاربردها و همچنین چگونگی عملکرد آن پرداخته می‌شود. در فصل پنجم، در خصوص پاره‌ای از روش‌های آزمایشگاهی مورد نیاز به هنگام کار، به صورت مدون بحث شده است.

از آن جایی که هیچ نگاشته‌ای خالی از ایراد و کاستی نیست، لذا از استاد محترم و دانشجویان گرامی تقاضا داریم با بزرگواری ما را از نظرات و انتقادات سازنده خود، در جهت بهتر شدن سطح کیفی کتاب محروم نسازند. در پایان، از همکاری تک تک دوستان و سروران گرامی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

من الله توفیق

نویسندگان

۱۴۰۲

فهرست مطالب

فصل اول

۱۳	روند دستکاری ژنتیکی توکسوپلازماگونه‌ای.....
۱۴	۱-۱ مقدمه.....
۱۵	۲-۱ نیاز به روش‌های درمانی بهتر در برخورد با توکسوپلاسموز.....
۱۶	۳-۱ مارکرهای انتخابی برای توکسوپلازماگونه‌ای.....
۱۷	۴-۱ ابزارهای ژنتیک پیشرو در توکسوپلازماگونه‌ای.....
۱۹	۵-۱ موتاسیون شیمیایی.....
۲۱	۶-۱ مهندسی ژنتیک معکوس در توکسوپلازماگونه‌ای.....
۲۲	۷-۱ روش‌های آنالیز ژن‌های ضروری.....
۲۳	۱-۷-۱ نو ترکیبی اختصاصی جایگاه.....
۲۴	۲-۷-۱ سیستم القایی تتراسیکلین.....
۲۷	۳-۷-۱ سیستم خاموش‌سازی ژن، با استفاده از U1 snRNP.....
۲۷	۴-۷-۱ تنظیم پایداری پروتئین.....
۲۸	۵-۷-۱ ژنتیک شیمیایی.....
۲۹	۸-۱ ویرایش ژنوم با استفاده از کریسپر در توکسوپلازماگونه‌ای.....
۳۱	۹-۱ سیستم کریسپر: ابزاری قدرتمند در شناسایی بپولوژی انگل‌ها.....

فصل دوم

۴۰	کاربرد ژنتیک کلاسیک در توکسوپلازماگونه‌ای.....
----	--

۴۱	۱-۲ مقدمه.....
۴۲	۲-۲ بیولوژی توکسوپلازما.....
۴۲	۱-۲-۲ چرخه سلولی.....
۴۳	۲-۲-۲ فاز جنسی.....
۴۵	۳-۲-۲ ساختار جمعیتی و تیپ‌های اصلی سویه‌ها.....
۴۷	۳-۲ پایه‌گذاری ژنتیک انتقالی.....
۴۷	۱-۳-۲ نقاط ما و میوزهای درون‌گونه‌ای.....
۵۰	۴-۲ توسعه نقشه‌برداری ژنتیکی.....
۵۰	۱-۴-۲ پیشرفت در ابزارهای ژنتیک مولکولی.....
۵۱	۲-۴-۲ توسعه نقشه‌های مرتبط با ژن‌های ژنتیکی.....
۵۴	۳-۴-۲ محدودیت‌های نقشه‌های ژنتیک وجود.....
۵۶	۵-۲ نقشه‌برداری خصوصیات فنوتیپی با استفاده از ژنتیک کلاسیک.....
۵۶	۱-۵-۲ نقشه‌برداری مقاومت دارویی.....
۵۹	۲-۵-۲ نقشه‌برداری خصوصیات کمی.....
۶۰	۳-۵-۲ یافته‌های ژنتیکی برای تعیین ژن‌های بیماری‌زا.....
۶۱	۱-۳-۵-۲ نقشه‌برداری تفاوت‌ها در آمیزش $I \times III$
۶۷	۲-۳-۵-۲ نقشه‌برداری تفاوت‌ها در آمیزش $II \times III$
۷۱	۳-۳-۵-۲ نقشه‌برداری تفاوت‌ها در آمیزش $I \times II$
۷۵	۴-۵-۲ خلاصه تفاوت‌های موجود بین انشعابات مختلف.....

۷۶	۵-۵-۲ ارتباط مدل موشی با سایر سویه‌ها.....
۷۷	۶-۲ چالش‌ها و مسائل آینده.....
۷۷	۱-۶-۲ رفع محدودیت‌های موجود.....
۷۸	۲-۶-۲ گسترش آنالیز فنوتیپی.....
	فصل سوم
۸۷	ایجاد انگل‌های رانس ژنیک.....
۸۸	۱-۳ مقدمه.....
۸۹	۲-۳ چگونگی ایجاد انگل‌های رانس ژنیک.....
۸۹	۱-۲-۳ ترانس فکشن گذرا.....
۹۳	۲-۲-۳ ترانسفورماسیون پایدار و مارکرهای انتخابی مثبت و منفی.....
۹۶	۳-۲-۳ نو ترکیبی همولوگ و الحاق تصادفی.....
۹۸	۳-۳ استفاده از انگل‌های ترانس ژنیک در مطالعه عملکرد ژن‌های انگل.....
۹۸	۱-۳-۳ نشانه‌گذاری اجزای زیر سلولی.....
۱۰۰	۲-۳-۳ آنالیز ژنتیکی ژن‌های ضروری.....
۱۰۲	۱-۲-۳-۳ نو ترکیبی اختصاصی جایگاه (SSR).....
۱۰۴	۲-۲-۳-۳ سیستم القایی ترانس‌سکالین.....
۱۰۶	۳-۳-۳ موتازنر الحاقی و به دام‌اندازی پروموتور به‌عنوان ابزاری در آنالیز ژنتیک عملکردی.....
۱۰۸	۴-۳-۳ آنالیز ژنتیکی با استفاده از موتازنر شیمیایی و کلون‌سازی تکمیلی.....
۱۰۹	۴-۳ چشم‌اندازها و نتایجی پیرامون دستکاری ژنتیکی توکسوپلاسماگونه‌ای.....

فصل چهارم

- ویرایش ژنوم با سیستم کریسپر و جنبه‌های مختلف کاربرد آن..... ۱۱۵
- ۴-۱ مقدمه..... ۱۱۶
- ۴-۲ نقش سیستم کریسپر در ایجاد ایمنی..... ۱۱۹
- ۴-۳ منشاء کریسپر: از سیستم ایمنی باکتریایی تا ویرایشگر ژنوم..... ۱۲۱
- ۴-۴ مکانیسم عملکرد کریسپر..... ۱۲۶
- ۴-۵ کاربرد کریسپر در ویرایش ژنوم..... ۱۳۲
- ۴-۶ زمینه‌های مختلف کاربرد کریسپر..... ۱۳۳
- ۴-۶-۱ استفاده از کریسپر - روش CARTER..... ۱۳۳
- ۴-۶-۲ استفاده از کریسپر در روش CRISPR..... ۱۳۴
- ۴-۶-۳ سیستم‌های کریسپری هدف گیرنده RNA..... ۱۳۵
- ۴-۶-۴ استفاده از کریسپر در طراحی مدارهای ربی در سلول‌های زنده..... ۱۳۷
- ۴-۶-۵ استفاده از کریسپر در درمان بیماری‌های انسانی..... ۱۳۷
- ۴-۶-۶ اصلاح محصولات کشاورزی با کمک کریسپر و ایجاد پلی‌ارییدی در گیاهان با استفاده از کریسپر..... ۱۴۰
- ۴-۶-۷ اصلاح محصولات دامی با کمک کریسپر..... ۱۴۲
- ۴-۶-۸ استفاده از کریسپر برای طراحی SHERLOCK..... ۱۴۳
- ۴-۷ انواع مختلف Cas9..... ۱۴۴
- ۴-۸ کنترل سیستم کریسپر..... ۱۴۶

۱-۸-۴	استفاده از ضدکریسپرها به عنوان کلید روشن و خاموش کردن کریسپر.....	۱۴۶
۲-۸-۴	استفاده از نور UV برای کنترل سیستم ویرایش ژنومی کریسپر.....	۱۴۷
۳-۸-۴	استفاده از gRNA تغییر یافته.....	۱۴۸
۹-۴	مسائل و سوالات پیرامون کاربرد عملی کریسپر.....	۱۴۸
۱۰-۴	استفاده از سیستم کریسپر در مهندسی ژنتیک توکسوپلازماگوندی.....	۱۵۱
۱-۱۰-۴	تخریب ریزن در سویه های مختلف توکسوپلازماگوندی با استفاده از کریسپر.....	۱۵۱
۲-۱۰-۴	حذف ژن بدو (dmd) با انتخاب در توکسوپلازماگوندی با استفاده از کریسپر.....	۱۵۴
۳-۱۰-۴	اثبات اهمیت پروتئین های ROP5 و ROP18 در بیماری زایی سویه های توکسوپلازماگوندی با استفاده از کریسپر.....	۱۵۵
فصل پنجم		
	گزیده های از پروتکل کشت انگل، دستکاری ژنتیکی، تشخیص فنوتیپی.....	۱۶۱
۱-۵	تکثیر تاکای زوئیت های توکسوپلازماگوندی در کشت بافت.....	۱۶۲
۲-۵	نگهداری از سلول های HFF.....	۱۶۳
۳-۵	نگهداری تاکای زوئیت ها.....	۱۶۴
۴-۵	نگهداری فریزری سلول میزبان و انگل.....	۱۶۵
۵-۵	تشخیص و برداشت مایکوپلازما.....	۱۶۸
۶-۵	باساژ دادن کیست تاکای زوئیت / برادی زوئیت توکسوپلازما در حیوانات.....	۱۶۹
۷-۵	پروتوکل ترانسفکشن و ترانسفورمیشن پایدار.....	۱۷۰
۱-۷-۵	ترانسفکشن گذرا.....	۱۷۰

- ۵-۷-۲ انتخاب ترانسفورمتهای پایدار..... ۱۷۲
- ۵-۸-۸ الحاق با واسطه آنزیمهای محدودالانتر (REMI)..... ۱۷۴
- ۵-۸-۱ کلونسازی لاینهای ترانسژنیک بهواسطه محدودیت رقت در پلیت ۹۶ خانه‌ای..... ۱۷۴
- ۵-۹-۹ اندازه‌گیری بقا و رشد انگل..... ۱۷۶
- ۵-۹-۱۰ ارزیابی پلاک..... ۱۷۶
- ۵-۹-۲ ارزیابی فلورسنس..... ۱۷۷
- ۵-۹-۳ ارزیابی بناگالاکتوزیداز (LacZ)..... ۱۷۸
- ۵-۹-۴ ارزیابی الیفی یواسیل..... ۱۷۹
- ۵-۱۰ سلولهای زنده و ترانسژنیک ایمونوفلورسنت غیرمستقیم..... ۱۸۰
- ۵-۱۱ سایتمتری انگلها و سلولهای ترانسژنیک..... ۱۸۲
- ۵-۱۲ تخریب ژنهای غیرضروری..... ۱۸۴
- ۵-۱۳ تخریب ژنهای ضروری..... ۱۸۶
- ۵-۱۳-۱ سینم القایی تتراسیکلین..... ۱۸۶
- ۵-۱۳-۲ تنظیم پایداری پروتئین..... ۱۸۸
- ۵-۱۴ مونائز الحاقی و برجسب نجات..... ۱۸۸
- ۵-۱۵ موتاسیون شیمیایی..... ۱۹۰
- ۵-۱۶ تکمیل کلونسازی با استفاده از کتابخانه ژنومی توکسوپلاسما..... ۱۹۱
- ۵-۱۷ بازسازی کاسمیدها از کتابخانه ژنومی توکسوپلاسما..... ۱۹۴
- ۵-۱۸ توصیه‌های ایمنی، هنگام کار با توکسوپلاسماگوندی..... ۱۹۶