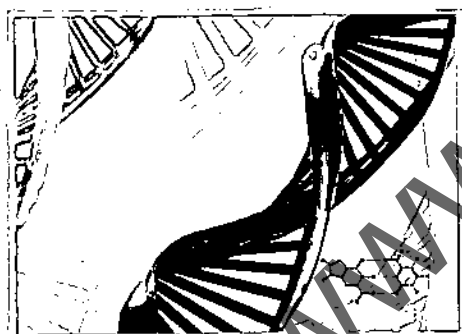


# مهندسی ژنتیک



تألیف:

**دکتر محمد مهدی حیدری**

عضو هیئت علمی گروه زیست شناسی دانشگاه یزد

**دکتر مهری خاتمی**

عضو هیئت علمی گروه زیست شناسی دانشگاه یزد



سرشناسه : حیدری، محمدمهدی، ۱۳۵۴ -

عنوان و نام پدیدآور : مهندسی ژنتیک / مؤلفین: محمدمهدی حیدری، مهری خاتمی.

مشخصات نشر : مشهد: وارستان، ۱۳۸۹.

مشخصات ظاهری : ۲۴۴ص: مصور، نمودار.

شابک : ۹۷۸-۶۰۰-۹۲۰۳۳-۲-۱

وضعیت فهرست نویسی : فیبا

موضوع : ژنتیک -- مهندسی

شناسه افزوده : خاتمی، مهری، ۱۳۵۶ -

رده بندی کنگره : ۱۳۸۹ ج ۹ م ۴۴۲ / QH

رده بندی دیویی : ۶۶۰/۶۵

شماره کتابشناسی ملی : ۶۴۸۸۴۱۲



### مهندسی ژنتیک

تألیف: دکتر محمدمهدی حیدری و دکتر مهری خاتمی

ناشر: انتشارات وارستان (وابسته به مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستان)

طراح و صفحه آرا: محمد فیض آبادی و نسرین شفتائی

مدیر فنی نشر: مهندس مصطفی جهانگیر

قطع: وزیری

نوبت چاپ: اول، زمستان ۱۳۸۹

شمارگان: ۱۰۰۰ نسخه

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۹۲۰۳۳-۲-۱

لیتوگرافی، چاپ و صحافی: دقت ۲۱۲۵۰۵۲ (معد)

بها: ۷۰۰۰۰ ریال

حق چاپ برای انتشارات وارستان محفوظ می باشد.

آدرس: مشهد - احمدآباد - خیابان بابک ۱ - مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستان

www.varapress.ir

تلفن مرکز پخش: ۰۵۱۱-۸۴۶۲۱۴۱

ناشر از همکاری شرکت پارس طوس در چاپ این کتاب به منظور  
کمک به توسعه فرهنگ کتابخوانی در کشور قدردانی می کند.

## مقدمه ناشر

دفتر ما هم به نامت باز شد

ای که با نامت جهان آغاز شد

انتشارات وارستان قصد دارد با مشارکت تمامی صاحبان فکر و اندیشه و نشر آثار فاخر، افق‌های تازه‌ای را به‌روی خوانندگان خود بگشاید، وارستان با این دیدگاه یا به عرصه نشر کتاب گذاشته است که بتواند در فراهم نمودن زیرساخت‌های مناسب برای ترویج فرهنگ مطالعه در جامعه مؤثر باشد. ما بر این باوریم که اگر نخبگان جامعه در حد توان خود در این مسیر حرکت کنند و دغدغه علم و فرهنگ جامعه را داشته باشند، بدون شک با تأثیرگذاری عالمانه می‌توانند تحولی شگرف در عرصه‌های گوناگون علمی ایجاد کنند. گرچه، آشتی دادن افرادی که شاید در طول سال حتی یک صفحه هم نمی‌خوانند با کتاب دشوار است، ولی اطمینان داریم چون تمایل به فهم، درک، رشد و شکوفایی در نهاد هر کس حک شده است این کار شدنی است و نتیجه آن شگفت‌انگیز خواهد بود.

ما با ترسیم چشم اندازی مطمئن، دست تمامی اساتید، مؤلفین و محققینی که دغدغه علم و فرهنگ این سرزمین را دارند، به گرمی می‌فشاریم و خداوند را شاکریم که چنین مسئولیتی را بر دشمنان نهاد و موهبت تأثیرگذاری در عرصه کتاب و کتابخوانی را به ما عطا فرمود.

امروزه دستیابی به فن‌آوری‌های جدید، راه موفقیت کشورهای خواهان پیشرفت است. به گونه‌ای که رقابت بر سر به‌دست آوردن این تکنولوژی‌ها هر روزه بیش‌تر از قبل مشاهده می‌شود. یکی از این تکنولوژی‌های جدید مهندسی ژنتیک است که به‌طور پنهان و آشکار در حال پیشرفت می‌باشد و می‌توان گفت حتی گوی سبقت را از بسیاری از تکنولوژی‌های دیگر ربوده است. مهندسی ژنتیک شامل یک سری روش‌ها در سطح مولکولی است که در زمینه‌های مختلفی از جمله پزشکی، زیست‌شناسی، کشاورزی و صنایع غذایی، نساجی، معدن و ... کاربرد دارد. کتاب حاضر مجموعه‌ای ارزشمند شامل روش‌های متداول در مهندسی ژنتیک می‌باشد که سعی شده است به زبان ساده و گویا توضیح داده شود و به همین منظور، بیشتر از شکل‌های قابل فهم با طراحی ساده استفاده شده است و به خوانندگان و پژوهشگران محترم تقدیم می‌شود. مطالعه این کتاب که حاصل زحمات اساتید پرتلاش، جناب آقای دکتر حیدری و سرکار خانم دکتر خاتمی می‌باشد، به دانشجویان رشته‌های مختلف نظیر ژنتیک، زیست‌شناسی، پزشکی، پیراپزشکی، داروسازی، کشاورزی و بیوتکنولوژی توصیه می‌شود. نکته قابل ذکر در این کتاب، این است که سعی شده است حتی‌الامکان از معادل‌های فارسی برای اسامی و روش‌های ژنتیکی استفاده شود، ولی در مواردی که کلمات لاتین گویاتر از معادل‌های فارسی غیرمرسوم آن‌ها بودند، از برگرداندن آن‌ها به فارسی صرف‌نظر شده است.

دکتر احمد ابوالحسنی

مدیر انتشارات

## پیشگفتار

امروزه دستیابی به فن‌آوری‌های جدید، راه موفقیت کشورهای خواهان پیشرفت است. به گونه‌ای که رقابت بر سر به‌دست آوردن این تکنولوژی‌ها هر روزه بیش‌تر از قبل مشاهده می‌شود. یکی از این تکنولوژی‌های جدید مهندسی ژنتیک است که به‌طور پنهان و آشکار در حال پیشرفت می‌باشد و می‌توان گفت حتی گوی سبقت را از بسیاری از تکنولوژی‌های دیگر ربوده است. مهندسی ژنتیک شامل یک سری روش‌ها در سطح مولکولی است که در زمینه‌های مختلفی از جمله پزشکی، زیست‌شناسی، کشاورزی و صنایعی مانند غذایی، نساجی، معدن و ... کاربرد دارد. کتاب حاضر مجموعه‌ای ارزشمند شامل روش‌های متداول در مهندسی ژنتیک می‌باشد که سعی شده است به زبان ساده و گویا توضیح داده شود و به همین منظور، بیشتر از شکل‌های قابل فهم با طراحی ساده استفاده شده است و به خوانندگان و پژوهشگران محترم تقدیم می‌شود. مطالعه این کتاب به دانشجویان رشته‌های مختلف نظیر ژنتیک، زیست‌شناسی، پزشکی، پیراپزشکی، داروسازی، کشاورزی و بیوتکنولوژی توصیه می‌شود. نکته قابل ذکر در این کتاب، این است که سعی شده است حتی‌الامکان از معادل‌های فارسی برای اسامی و روش‌های ژنتیکی استفاده شود، ولی در مواردی که کلمات لاتین گویاتر از معادل‌های فارسی غیر مرسوم آن‌ها بودند، از برگرداندن آن‌ها به فارسی صرف‌نظر شده است.

یقین داریم که مجموعه حاضر دارای نواقصی نیز می‌باشد که از دید نگارندگان پنهان مانده‌است، لذا نظریات خوانندگان و پژوهشگران عزیز را باعث دلگرمی خود و رفع آن‌ها در چاپ‌های بعدی می‌دانیم.

در این‌جا برخود لازم می‌دانیم تا از انتشارات وارستگان به علت همکاری صمیمانه‌ای که در جهت چاپ و نشر این کتاب با ما داشته‌اند، تشکر و قدردانی نماییم.

دکتر محمد مهدی حیدری

دکتر مهری خاتمی

زمستان ۱۳۸۷

## فهرست مطالب

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| فصل ۱: اصول مهندسی ژنتیک.....                            | ۱۵ |
| ۱-۱ چرا مطالعه ژنتیک مفید است؟.....                      | ۱۵ |
| ۱-۲ خلاصه ای از تاریخچه علم ژنتیک.....                   | ۱۶ |
| ۱-۳ اسیدهای نوکلئیک.....                                 | ۱۸ |
| ۱-۳-۱ ساختار پلیمری اسیدهای نوکلئیک.....                 | ۲۰ |
| ۲-۳-۱ سنتز DNA.....                                      | ۲۱ |
| ۳-۳-۱ سنتز RNA.....                                      | ۲۲ |
| ۴-۱ سنتز پروتئین.....                                    | ۲۳ |
| ۵-۱ دست ورزی DNA.....                                    | ۲۴ |
| فصل ۲: استخراج و خالص سازی DNA.....                      | ۲۷ |
| ۱-۲ DNA کل سلول یوکاریوتی.....                           | ۲۷ |
| ۲-۲ DNA کل سلول های باکتریایی.....                       | ۲۹ |
| ۳-۲ DNA خالص پلاسمیدی.....                               | ۳۱ |
| ۱-۳-۲ روش های جداسازی DNA پلاسمیدی از DNA باکتریایی..... | ۳۴ |
| ۴-۲ DNA خالص باکتریوفازی.....                            | ۳۷ |
| ۱-۴-۲ باکتریوفاز λ.....                                  | ۳۷ |
| ۲-۴-۲ باکتریوفاز M13.....                                | ۴۰ |



## فصل ۳: ژل الکتروفورز و دست ورزی DNA ..... ۴۳

۱-۳ الکتروفورز ..... ۴۳

۲-۳ آشکار سازی DNA در ژل ..... ۴۶

۱-۲-۳ رنگ آمیزی ..... ۴۶

۲-۲-۳ خودپرتونگاری DNA نشاندار شده با مواد رادیواکتیو ..... ۴۶

۳-۳ تعیین غلظت و خلوص نمونه ..... ۴۷

۱-۳-۳ اسپکتروفتومتری ..... ۴۷

۲-۳-۳ ژل الکتروفورز ..... ۴۷

۳-۴ دست ورزی DNA ..... ۴۸

۱-۴-۳ جداسازی DNA ..... ۴۸

۲-۴-۳ برش در DNA ..... ۴۸

۳-۴-۳ پرکردن شکاف بین رشته‌ای ..... ۵۰

۴-۴-۳ اتصال مجدد قطعات DNA به یکدیگر ..... ۵۱

۵-۳ طراحی و ایجاد انتهای چسبیده در انتهای صاف مولکول DNA ..... ۵۱

۱-۵-۳ رابط (لینکر) ..... ۵۲

۲-۵-۳ سازگار کننده (اداپتور) ..... ۵۳

۳-۵-۳ ساخت انتهای چسبیده با ایجاد دم پلیمر همسان ..... ۵۴

## فصل ۴: دورگه‌گیری اسیدهای نوکلئیک ..... ۵۷

۱-۴ اصول دورگه‌گیری اسیدهای نوکلئیک ..... ۵۷

۲-۱-۴ نشاندار کردن کاوشگرها ..... ۵۸

۲-۴ نشاندار کردن RNA ..... ۶۱

۱-۲-۴ نشاندار کردن با استفاده از مواد رادیوایزوتوپ و آشکارسازی ..... ۶۱

۲-۲-۴ نشاندار کردن با مواد غیر ایزوتوپی و روش آشکارسازی ..... ۶۲

۳-۴ درجه حرارت ذوب و سختی دورگه‌گیری ..... ۶۲



|       |                                              |    |
|-------|----------------------------------------------|----|
| ۴-۴   | لکه گذاری نقطه ای                            | ۶۵ |
| ۵-۴   | لکه گذاری ساترن                              | ۶۶ |
| ۶-۴   | لکه گذاری نور ترن                            | ۶۷ |
| ۷-۴   | دورگه گیری در محل                            | ۶۸ |
| ۷۱    | فصل ۵: ناقل های کلون سازی                    |    |
| ۱-۵   | ناقل های کلون سازی                           | ۷۱ |
| ۲-۵   | پلاسمیدها                                    | ۷۲ |
| ۳-۵   | باکتریوفازها                                 | ۷۴ |
| ۱-۳-۵ | ناقل های کلون سازی بر اساس باکتریوفاز لامبدا | ۷۵ |
| ۲-۳-۵ | فاز M13                                      | ۷۷ |
| ۴-۵   | فازمید                                       | ۷۸ |
| ۵-۵   | کاسمید                                       | ۷۹ |
| ۶-۵   | فاسمید                                       | ۷۹ |
| ۷-۵   | ناقل های پر ظرفیت                            | ۸۰ |
| ۱-۷-۵ | کروموزوم های مصنوعی مخمر (YACs)              | ۸۰ |
| ۲-۷-۵ | کروموزوم های مصنوعی باکتری (BACs)            | ۸۱ |
| ۳-۷-۵ | ناقل های باکتریوفاز PI و PACs                | ۸۱ |
| ۸۳    | فصل ۶: کلون سازی ژن و کتابخانه های ژنتیکی    |    |
| ۱-۶   | کلون سازی                                    | ۸۳ |
| ۲-۶   | وارد کردن DNA به داخل سلول میزبان            | ۸۴ |
| ۳-۶   | ترانس فورماسیون                              | ۸۶ |
| ۴-۶   | تهیه سلول های مستعد                          | ۸۶ |
| ۵-۶   | غربالگری سلول های ترانسفرم شده با ناقل       | ۸۷ |
| ۶-۶   | کتابخانه های ژنتیکی                          | ۸۹ |



|          |                                                    |
|----------|----------------------------------------------------|
| ۸۹.....  | ۱-۶-۶ کتابخانه ژنومی                               |
| ۹۰.....  | ۲-۶-۶ کتابخانه cDNA                                |
| ۹۱.....  | ۳-۶-۶ مراحل تبدیل mRNA به cDNA                     |
| ۹۳.....  | ۷-۶ کلون سازی در گیاهان                            |
| ۹۵.....  | ۱-۷-۶ پلاسمید Ti                                   |
| ۹۶.....  | ۲-۷-۶ محدودیت های کاربرد اگروباکتریوم              |
| ۹۷.....  | ۸-۶ کاربردهای کلون سازی DNA                        |
| ۹۹.....  | فصل ۷: تعیین توالی و مطالعه ژنوم                   |
| ۱۰۰..... | ۱-۷ تعیین توالی                                    |
| ۱۰۳..... | ۲-۷ نقشه کشی محدود کننده                           |
| ۱۰۴..... | ۳-۷ مطالعه ژنوم                                    |
| ۱۰۵..... | ۱-۳-۷ مطالعات در سطح ژنومی                         |
| ۱۰۵..... | ۱-۱-۳-۷ تعیین توالی ژنوم                           |
| ۱۰۷..... | ۲-۱-۳-۷ روش های جمع آوری اطلاعات از کلون هم جوارها |
| ۱۰۷..... | ۱-۲-۱-۳-۷ گام زنی کروموزومی                        |
| ۱۰۹..... | ۴-۷ مطالعات ترانسکریپتوم و پروتئوم                 |
| ۱۰۹..... | ۱-۴-۷ مطالعه ترانسکریپتوم                          |
| ۱۱۱..... | ۲-۴-۷ مطالعه پروتئوم                               |
| ۱۱۳..... | ۵-۷ کاوش در توالی DNA                              |
| ۱۱۵..... | ۶-۷ برخی از آدرس های اینترنتی مفید                 |
| ۱۱۷..... | فصل ۸: واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)                |
| ۱۱۷..... | ۱-۸ روش PCR                                        |
| ۱۲۳..... | ۲-۸ بهینه کردن شرایط سنجش PCR                      |
| ۱۲۳..... | ۳-۸ کاربردهای تشخیصی PCR                           |



|          |                                                      |
|----------|------------------------------------------------------|
| ۱۲۲..... | ۸-۳-۱ شناسایی پاتوژن‌ها در نمونه‌های بافتی           |
| ۱۲۳..... | ۸-۳-۲ تشخیص جهش‌های ژنتیکی                           |
| ۱۲۳..... | ۸-۳-۳ یافتن ژن‌ها در ژنوم                            |
| ۱۲۴..... | ۸-۳-۴ مقایسه ژنوم‌ها                                 |
| ۱۲۴..... | ۸-۴ انواع PCR                                        |
| ۱۲۴..... | ۸-۴-۱ روش PCR با پرایمرهای دژنره                     |
| ۱۲۵..... | ۸-۴-۲ روش RT-PCR                                     |
| ۱۲۷..... | ۸-۴-۳ روش PCR معکوس                                  |
| ۱۲۸..... | ۸-۵ کلون‌سازی محصول PCR                              |
| ۱۳۱..... | فصل ۹: کاربرد روش‌های مهندسی ژنتیک در شناسایی جهش‌ها |
| ۱۳۲..... | ۹-۱ مزایا و معایب استفاده از RNA به جای DNA          |
| ۱۳۲..... | ۹-۲ فنون کاربردی در تشخیص جهش‌ها                     |
| ۱۳۲..... | ۹-۲-۱ روش ASO                                        |
| ۱۳۲..... | ۹-۲-۲ روش PCR-RFLP                                   |
| ۱۳۳..... | ۹-۲-۳ روش ARMS                                       |
| ۱۳۴..... | ۹-۲-۴ روش PCR چندتایی                                |
| ۱۳۵..... | ۹-۲-۵ روش OLA                                        |
| ۱۳۵..... | ۹-۲-۶ روش SSCP                                       |
| ۱۳۷..... | ۹-۲-۷ روش DGGE                                       |
| ۱۳۸..... | ۹-۲-۸ روش HA                                         |
| ۱۳۸..... | ۹-۲-۹ روش CMC                                        |
| ۱۳۹..... | ۹-۲-۱۰ روش PTT                                       |
| ۱۴۲..... | ۹-۲-۱۱ روش ریزتراشه (تراشه DNA)                      |



فصل ۱۰: بیوتکنولوژی ..... ۱۴۵

۱-۱۰ بیوتکنولوژی ..... ۱۴۵

۱-۱۰ ۲- مشکلات ناشی از بیان توالی ژن بیگانه در باکتری‌ها ..... ۱۴۹

۱-۱۰ ۳- مهندسی پروتئین ..... ۱۴۹

۱-۱۰ ۴- تراریخت‌ها ..... ۱۵۱

۱-۱۰ ۱-۴ گیاهان تراریخت ..... ۱۵۱

۱-۱۰ ۲-۴ جانوران تراریخت ..... ۱۵۲

۱-۱۰ ۵- ژن درمانی ..... ۱۵۳

۱-۱۰ ۱-۵ راهکارهای متداول در ژن درمانی ..... ۱۵۴

۱-۱۰ ۲-۵ روش‌های ژن درمانی ..... ۱۵۵

۱-۱۰ ۶- شبیه سازی ..... ۱۵۹

۱-۱۰ ۷- ملاحظات اخلاقی و اجتماعی ..... ۱۶۰

تعاریف و اصطلاحات ..... ۱۶۱

سوالات چهار گزینه‌ای ..... ۱۷۹

پاسخنامه سؤالات چهار گزینه‌ای ..... ۲۳۴

نمایه ..... ۲۳۷

منابع ..... ۲۴۳