

زیست پیش دانشگاهی

فصل دوم

« جلسه ۵ »



رهپویان دانش
و اندیشه



آزمایش کوهن و بایر:

۱- نوع ژنی که دست ورزی شد.

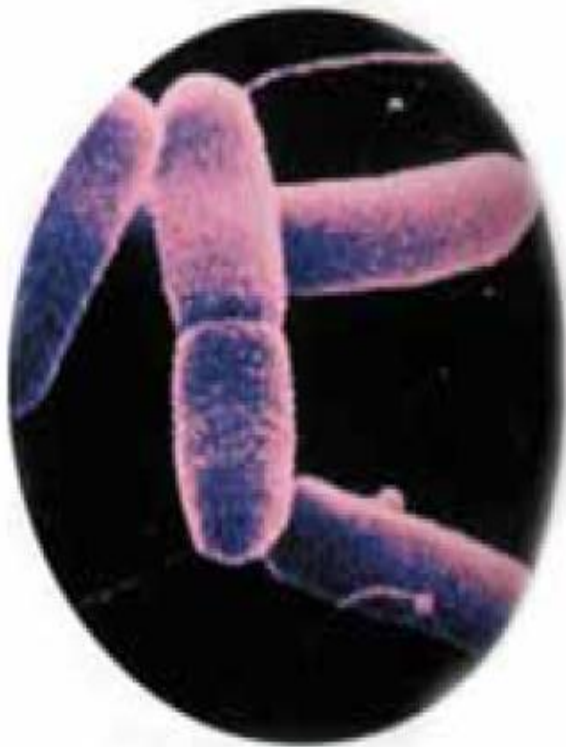
- ژن رمزکننده rRNA قورباغہی آفریقایی

- این ژن به کمک RNA پلی مرآز I و عوامل رونویسی در قورباغہ رونویسی می شود.

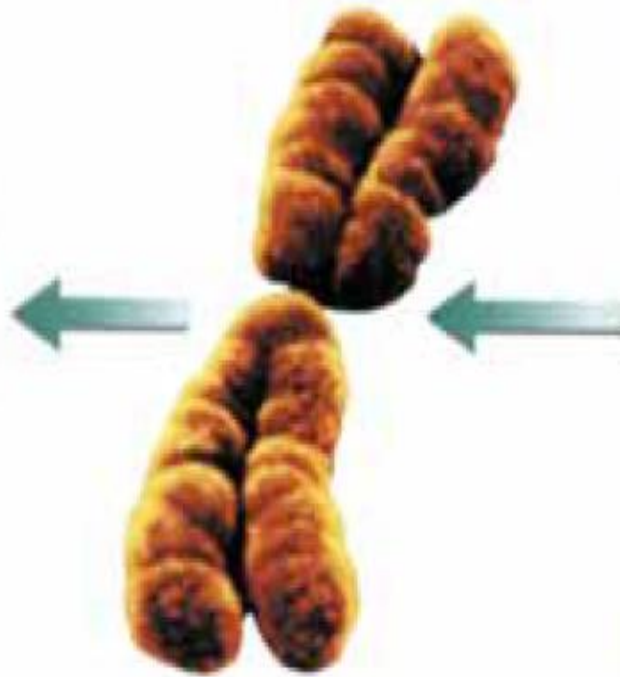
- این ژن به پروتئین ترجمہ نمی شود بلکه در ساختار ریبوزوم نقش آنزیمی دارد.

۲- جاندار دریافت کننده: باکتری EcoRI (اولین جاندار

تراژنی یا دارای ژن بیگانه)



۳- این ژن را به باکتری‌ها وارد کردند.
باکتری‌ها rRNA قورباغه را ساختند.



۲- ژن رمزکننده‌ی یک rRNA از
یکی از کروموزوم‌های آن جدا شد.



۱- این قورباغه به‌عنوان جاندار
آزمایشگاهی انتخاب شد.



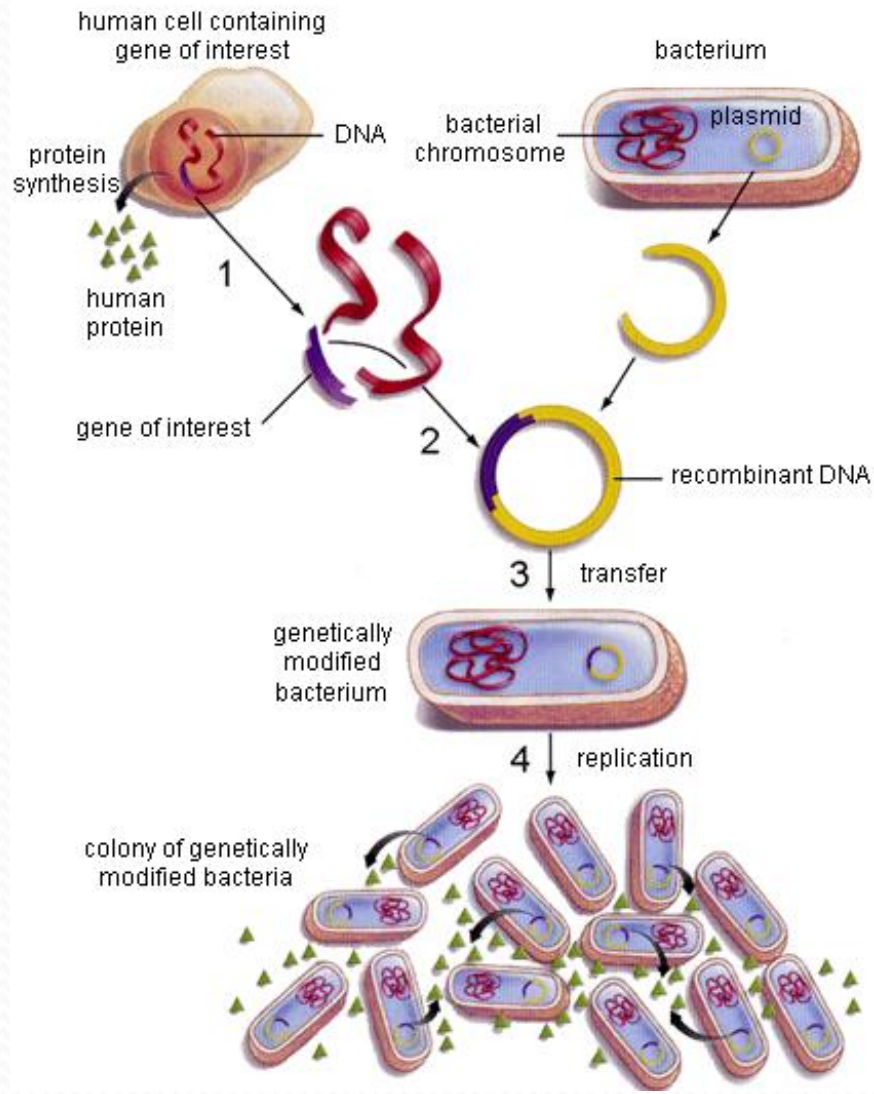
تست: در آزمایش کوهن و بایر، ژن وارد شده در اولین جاندار دست ورزی شده، محصولی ایجاد کرد کہ داشت. (سراسری ۸۹)

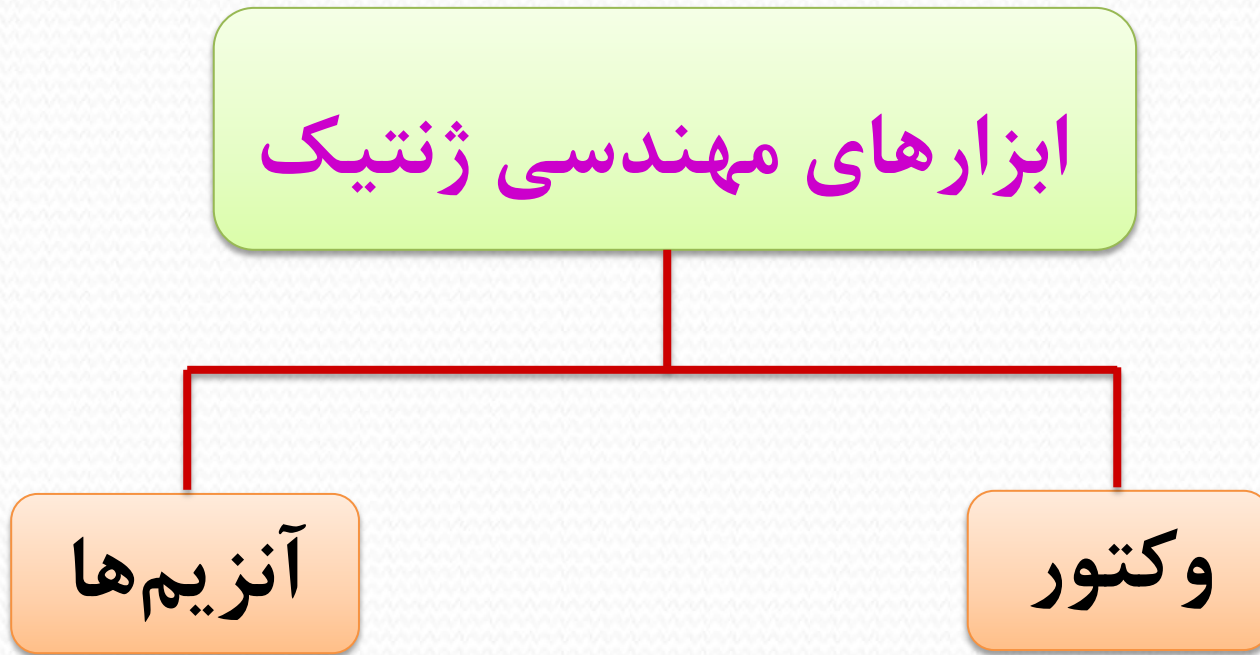
(۱) پیوند پتیدی

(۲) کدون ترجمه

(۳) جایگاه اتصال آمینواسید

(۴) پیوند فسفودی استر







(۱) آنزیم‌ها:

- برای ساخت DNA نو ترکیب } (الف) محدود کننده
(ب) لیگاز

- برای کلون کردن ژن: DNA پلی‌مراز و هلیکاز

- برای استخراج ژن: مجدداً آنزیم محدود کننده‌ی که بار اول استفاده شد.

- برای غربال کردن: RNA پلی‌مراز برای بیان ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک

- برای بیان ژن و تولید محصول: RNA پلی‌مراز



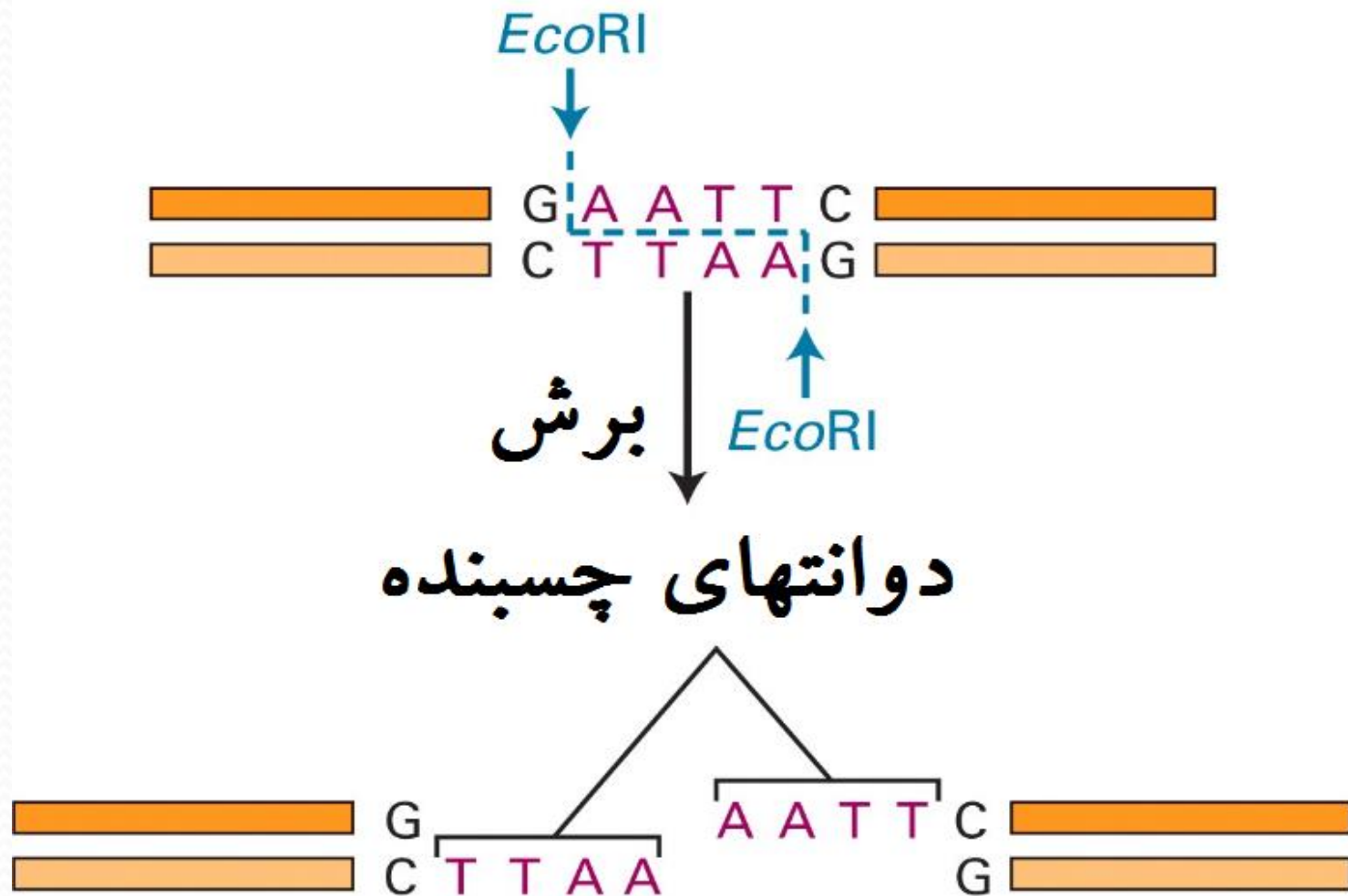
الف) محدود کننده:

- مختص باکتری‌ها هستند (توسط سیستم اپرانی ساخته می‌شوند)

- جایگاه تشخیص آن‌ها توالی‌های کوتاه قرینه دو طرفه است.

- انواع برش DNA:

- ۱- بعضی بدون تولید انتهای چسبنده (فقط شکستن پیوند فسفودی استر)
- ۲- بیش‌تر تولید انتهای چسبنده (شکستن پیوندهای فسفودی استر و هیدروژنی)





ب) لیگاز

- دو انتهای چسبنده از طریق پیوندهای هیدروژنی و بدون

لیگاز به هم می چسبند.

- بعد از چسبیدن دو انتهای چسبنده به هم وارد عمل

می شود و دو DNA را به هم متصل می کند.



معمول ترین وکتورها





(۱) پلازمید:

- DNAهای حلقوی کوچک در بعضی باکتری‌ها
- به دلیل داشتن ژن‌های متفاوت با کروموزوم اصلی (مثل ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک) کروموزوم کمک‌اند.
- به دلیل داشتن نقطه‌ی شروع همانندسازی هم هماهنگ اصلی و هم مستقل از کروموزوم اصلی می‌توانند همانندسازی کنند.



(۱) باکتریوفاژ:

- ساختار

DNA طویل

کسپید چند وجهی

دم مارپیچی

- هم هماهنگ با کروموزوم‌های اصلی (چرخه لیزوژنی) و هم

مستقل از کروموزوم اصلی (چرخه لیٹیک) تکثیر می‌شوند.



سؤال: صحیح یا غلط بودن هر یک از جملات زیر را مشخص کنید.

(۱) به طور معمول در باکتری‌ها به تعداد مولکول DNA، دو برابر دو راهی همانندسازی ایجاد می‌شود.

(۲) به دنبال هر بار همانندسازی DNA در باکتری، تقسیم دوتایی رخ می‌دهد.

(۳) دو انتهای چسبنده حاصل از برش یک آنزیم محدودکننده از نظر تعداد و نوع باز آلی یکسان‌اند.



(۴) در مهندسی ژنتیک برای انتقال هر ژن خارجی به سلول دریافت کننده، نیاز به یک وکتور است.

(۵) هر DNA ای که در باکتری‌ها دارای ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک باشد، یک DNA کمکی است.

(۶) با اثر آنزیم E.coRI در جایگاه تشخیص خود ۸ پیوند هیدروژنی و ۲ پیوند فسفودی‌استر شکسته می‌شود.



تست: باکتریوفاژها پلازمیدها (سراسری ۹۱ خارج)

- (۱) همانند - فاقد ژن مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها هستند.
- (۲) همانند - می‌توانند مستقل از کروموزوم اصلی میزبان همانندسازی نمایند.
- (۳) برخلاف - برای کلون کردن DNA در باکتری‌ها استفاده می‌شوند.
- (۴) برخلاف - توسط آنزیم‌های محدود کننده برش داده می‌شوند.



تست: اگر به کروموزوم‌های کمکی یک باکتری، دو ژن بیگانه در دو محل جداگانه متصل کنند، برای تشکیل این DNAی نو ترکیب، جمعاً چند پیوند فسفودی‌استر در این کروموزوم تخریب و تشکیل شده است؟ (سراسری ۸۹ خارج)

۶ (۱)

۸ (۲)

۱۶ (۴)

۱۲ (۳)



تست: در ، نوکلئوتید یافت نمی شود. (سراسری ۹۲)

(۱) EcoRI و هلیکاز

(۲) عامل ترانسفورماسیون و کاتالاز

(۳) جایگاه تشخیص آنزیم محدود کننده و پتیالین

(۴) پپسینوژن و پیک دومین گلوکاگون



مراحل کلون کردن ژن انسولین:

- ۱- جدا کردن ژن از کروموزوم انسان به کمک آنزیم **ECORI** (۸+۸ پیوند هیدروژنی و ۲+۲ پیوند فسفودی استر می شکنند).
- ۲- برش پلازمید به کمک آنزیم **ECORI** (۸ پیوند هیدروژنی و ۲ پیوند فسفودی استر می شکنند).
- ۳- دو انتهای چسبندهی پلازمید (**TTAA**) با دو انتهای چسبندهی دو سر ژن انسولین (**TTAA**) از طریق پیوند هیدروژنی می چسبند. (۸+۸ هیدروژنی تشکیل)



۴- آنزیم لیگاز موجب تشکیل پیوند فسفودی استر بین دو DNA (نه انتهای چسبنده) با برقراری پیوند بین A و G می شود. (۲+۲ فسفودی استر تشکیل)

۵- DNA نو ترکیب را در مجاورت باکتری ها قرار می دهند، تعداد کمی از باکتری ها موفق به جذب آن می شوند.

۶- DNA نو ترکیب به دلیل داشتن نقطه‌ی شروع همانندسازی مستقل به کمک DNA پلی‌مراز و هلیکاز باکتری کلون می شود.



۷- ژن مقاومت به آنتی بیوتیک تتراسایکلین به کمک RNA پلی مرز باکتری روشن می شود که می توان با این آنتی بیوتیک باکتری ها را غربال کرد.

۸- اگر هدف تولید انسولین باشد، باید RNA پلی مرز ژن انسولین را رونویسی و بعد ریبوزوم باکتری آن را بسازد.

۹- اگر هدف استخراج ژن انسولین باشد به کمک آنزیم EcoRI، ژن انسولین استخراج می شود.

۱۰- ژل الکتروفورز:

- قطعات برش داده شده در چاهک‌های ژل قرار می‌گیرند.
- قطب منفی در کنار چاهک و قطب مثبت مخالف آن قرار می‌گیرد.
- ژل منافذ ریز بسیار دارد، قطعات کوچک‌تر (انسولین) سریع‌تر از قطعات بزرگ‌تر (پلازمیدی) از آن‌ها عبور می‌کنند.
- بعد از اتمام الکتروفورز دونوار روی ژل وجود دارد. نوار نزدیک‌تر به قطب مثبت دارای قطعات کوچک‌تر (انسولین) است.
- این روش برای پروتئین‌ها هم کاربرد دارد.

