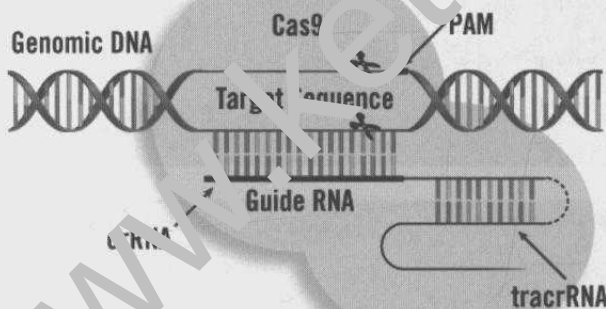


سیستم ویرایش ژنی CRISPR / Cas

و

اصول پایه دست ورزی ژنی



گردآورنده : مهین تاج دارا

(دانشجوی Ph.D پزشکی مولکولی، دانشکده علوم و فن اوری های نوین پزشکی

شیراز)

با نظارت: دکتر مهدی دیانت پور

(عضو هیئت علمی گروه ژنتیک دانشکده پزشکی شیراز)

سرشناسه: دارا، مهین تاج، ۱۳۶۷ - گردآورنده

عنوان و نام پدیدآور: سیستم ویرایش ژنی CRISPR/Cas و اصول پایه دستورزی ژنی / گردآورنده مهین تاج دارا؛ با نظارت مهدی دیانت پور.

مشخصات نشر: شیراز: ارم شیراز، ۱۳۹۶.

مشخصات ظاهری: ۱۲۰ ص: مصور، جدول، نمودار.

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۴۵۴-۰۳۹-۱

وضعیت فهرست نویسی: فیپا

موضوع: تنظیم ژنتیکی

موضوع: Genetic regulation

موضوع: ژنتیک -- مهندسی

موضوع: Genetic engineering

موضوع: مهندسی DNA

موضوع: Recombinant DNA

موضوع: دستگاهها -- مکانیسمهای کنترل

موضوع: Cellular components

موضوع: نوترکیبی ژنتیکی

موضوع: Genetic recombination

شناسه افزوده: دیانت پور، مهین

رده بندی کنگره: ۱۳۹۶ س ۹

رده بندی دیویی: ۵۷۲/۸۶۵

شماره کتابشناسی ملی: ۴۹۱۴۵۳۷

نام کتاب: سیستم ویرایش ژنی CRISPR/Cas و اصول پایه دستورزی ژنی

گردآورنده مهین تاج دارا؛ با نظارت مهدی دیانت پور.

صفحه آرا: محبوبه پراهمیان

تیراژ: ۱۰۰۰ جلد

قطع: وزیری

قیمت: ۲۰۰۰۰ تومان

تعداد صفحات: ۱۲۰ ص

ناشر: انتشارات ارم شیراز

نوبت چاپ: اول

لیتوگرافی، چاپ و صحافی: واصف

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۴۵۴-۰۳۹-۱

مدیر مسئول انتشارات: دکتر مسعود صفار

آدرس: شیراز- میدان دانشجو- مجتمع پزشکی نشاط- طبقه چهارم- انتشارات ارم شیراز

تلفن: ۰۷۱-۳۶۴۶۲۰۷۷ - فاکس: ۰۷۱-۳۶۴۶۲۰۵۸

وب سایت: www.erampub.com

طبق قانون حمایت از آثار مؤلفین و مترجمین، تمامی حقوق جهت مؤلف و ناشر بر اساس قرارداد فی مابین محفوظ است و هرگونه کپی برداری ممنوع و پیگرد قانونی دارد.

۹	پیشگفتار :
۱۱	فصل اول: تاریخچه سیستم CRISPR/Cas
۱۷	فصل دوم: سیستم CRISPR/Cas
۲۰	سیستم CRISPR-Cas:
۲۱	پروتئینهای Cas :
۲۴	موتیفهای مجاور نواحی جداکننده (PAM):
۲۷	تقسیم بندی دیگری برای سیستمهای CRISPR-Cas:
۳۱	فصل سوم: Cpf ساختار و طبقه بندی
۳۲	توالی PAM مورد شناسایی توسط Cpf1 و نحوه ی برش آن :
۳۷	فصل چهارم: C2c2 طبقه بندی و ساختار
۳۹	توالی PAM در سیستم C2c2
۴۰	پروتئین C2c2:
۴۳	فصل پنجم: متداولترین روش های انتقال سیستم CRISPR/Cas
۴۴	ویروسهای وابسته به آدنو ویروسها یا AAVها:
۴۵	ساختار ویروس AAV:
۴۷	چرخه تکثیر و همانندسازی در AAV:
۴۸	استفاده از AAV برای انتقال ژن به درون سلول:
۵۱	سودوتاپیهای AAV:
۵۱	فرم هیبرید AAV:
۵۳	لنتی وکتورها :
۵۹	فصل ششم: دست آوردهای تحقیقاتی سیستم CRISPR/ Cas و چشم اندازهای پیش رو
۶۱	سیستم CRISPR و HIV:
۶۲	کم خونی داسی شکل:
۶۳	کنترل رگ زایی در سرطان ها:
۶۵	ایمونوسل تراپی سرطان و سیستم CRISPR

بیماریهایی با توالیهای تکراری ۳ نکوتیدی و CRISPR	۶۶
تولید حیوانات مدل آزمایشگاهی با استفاده از سیستم CRISPR	۶۶
اصلاح ژن بر روی جنین انسان با استفاده از سیستم CRISPR	۶۷
استفاده از سیستم CRISPR در کشاورزی و سایر زمینه های غیر پزشکی	۶۸
فصل هفتم: سایر ابزارهای دست ورزی ژنی	۷۱
زمین متصل شونده به DNA که ساختار انگشت روی دارد:	۷۲
TALEN	۷۵
مگانوکلیاز (Mega nuclease)	۷۶
MegaTAL	۷۷
بخش دوم: اصول پایه دست ورزی ژنی	۷۹
فصل اول: آنزیمهای محدود کننده	۷۹
انواع آنزیمهای محدود کننده:	۸۱
آنزیمهای محدود کننده مصنوعی:	۸۳
فصل دوم: روشهای مختلف کلون کردن ژن	۸۵
روش برش و اتصال با استفاده از آنزیمهای محدود کننده و لیگاز	۸۸
روش Gate way	۸۸
روش Gibson assembly	۹۰
روش Golden Gate Cloning	۹۲
روش Topo-cloning	۹۲
فصل سوم: وکتورها	۹۵
پلاسمیدها	۹۶
تقسیم بندی پلاسمیدها:	۱۰۰
باکتریوفازها:	۱۰۱
فاز M13	۱۰۲
وکتورهای ویروسی:	۱۰۳
فازمیدها و فازمیدها	۱۰۶

۱۰۷.....	کروموزومهای مصنوعی (BAC & YAK):
۱۱۱.....	فصل چهارم: انتقال ژن خارجی به درون سلولها
۱۱۷.....	فهرست منابع:

www.ketab.ir

پیشگفتار :

علوم سلولی، مولکولی و مهندسی ژنتیک در سال‌های نه چندان‌ی توانسته است که در حوزه‌های مختلف پزشکی و علوم پایه، تحولات بزرگی را ایجاد کند و دست آوردهای چشم‌گیری داشته باشد. امروزه مرز بین علوم کم‌رنگ‌تر از قبل شده است و علوم همسو با هم با یک هدف مشترک که بهبود وضع زندگی بشر است، پیش می‌روند. دست‌ورزی‌های ژنتیکی در کنار علوم سلولی و مولکولی توانسته است امیدهایی را در زمینه‌ی درمان بیماری‌های مختلف ژنتیکی و بیماری‌های در معرض‌العلاج ایجاد کند. امروزه شاهد آن هستیم، نمونه‌هایی از بیماری‌های مختلف حتی برخی از سرطان‌ها با استفاده از دست‌ورزی ژنی و ژن‌درمانی قابل کنترل شده‌اند و برخی نیز به صورت مورد قابل درمان می‌باشد. واژه دست‌ورزی ژنی که یک واژه کلیدی و پایه است، سنگ بنای تکرارهای پیشرفته و روش‌های جدید درمانی از جمله ژن‌درمانی می‌باشد. دست‌ورزی ژنی با روش‌های مختلفی قابل انجام است و برای انجام آن، نیاز به داشتن مهارت در مهندسی ژنتیک و علوم سلولی و مولکولی است. در طی دست‌ورزی ژنی، ۳ فرایند با توجه به هدف محقق می‌تواند روی ژن مورد نظر اتفاق بیفتد:

- (۱) ویرایش ژنی که در آن ژن معیوب را تصحیح می‌کنند.
 - (۲) جایگزینی ژنی که در طی آن ژن معیوب را با ژن سالم جایگزین می‌کنند.
 - (۳) تعدیل ژنی که در طی آن ژن معیوب دچار دست‌ورزی نمی‌شود بلکه ژن‌های مرتبط با آن که روی فعالیت ژنی مورد نظر تأثیر می‌گذارند، مورد هدف قرار می‌گیرند. تمام این ۳ روش دست‌ورزی ژنی اساس ژن‌درمانی را تشکیل می‌دهند.
- در طی چند سال اخیر، تکنولوژی جدید CRISPR/Cas معرفی شده است که فرآیند دست‌ورزی ژنی با آن دچار تحول گسترده شده است. سیستم CRISPR/Cas به عنوان یک سیستم ایمنی اکتسابی در باکتریها عمل می‌کند که از ورود ژنوم فاژ بیگانه ممانعت می‌کند.

دانشمندان به طور هوشمندانه ای از آن به عنوان یک ابزار برای ویرایش ژنی استفاده کرده اند. تحقیقات و دستاوردهای مهمی هم در زمینه پزشکی و درمان بیماری‌های مختلف از جمله سرطان و هم در زمینه‌های غیرپزشکی مثل کشاورزی، دامداری و ... با استفاده از این تکنولوژی انجام شده است. این سیستم به عنوان یک قدرتمند چشم انداز روشنی را پیش رو دارد و امید آن می‌رود که در آینده ای نه چندان دور بتوان از آن برای درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده کرد. با توجه به جدید و هوشمندانه بودن این تکنیک، در کشور ما نیز محققان و دانشجویان جوان علاقمندی زیادی به آشنا شدن و کار کردن در این زمینه نشان می‌دهند. طبیعتاً آشنا شدن و کار کردن محققان جوان و دانشجویان این مرز و بوم در حوزه‌های جدید علم و زمینه‌های پیشرفت کشور عزیزمان ایران را بیش از پیش فراهم می‌کند. از این رو، بر آن شده‌ام با گردآوری و تألیف این کتاب، زمینه‌ای آشنایی علاقمندان به این تکنولوژی را فراهم کنم. گروه هدف این کتاب دانشجویان پزشکی و علوم پایه و علاقمندان به علوم سلولی و مولکولی و مهندسی ژنتیک می‌باشند. این کتاب دو بخش کلی دارد که بخش اول را تکنولوژی CRISPR و بخش دوم را اصول پایه و مورد نیاز برای دست‌ورزی ژنی تشکیل می‌دهد. امید است که این کتاب بتواند سهمی هر چند کوچک در جهت نشر علم داشته باشد. صمیمانه پذیرای نظرات، پیشنهادات و انتقادات سازنده شما در جهت بهبود این اثر از طریق ادرس ایمیل dan.mp.pd@gmail.com می‌باشم.

در پایان از استاد عزیز، جناب آقای دکتر مهدی دیانت پور که نظارت عالی این اثر را بر عهده داشتند و همچنین گروه پزشکی مولکولی دانشکده علوم و فن آوری‌های نوین پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز کمال تشکر و قدردانی را دارم.

به امید ایرانی پیشرفته تر و آبادتر

مهین تاج دارا

دانشجوی Ph.D پزشکی مولکولی