

بیوتکنولوژی سلولی حشرات
(به انضمام درس های تهیه سازه های بیانی باکلو ویروسی و
پروتکین های تولید پروتئین نو ترکیب)

ترجمه و تألیف:

حسن بخشی (دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی انستیتو پاستور)
سمیه صادقی (دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی انستیتو پاستور)
دکتر حمزه علیپور (عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران)

بیوتکنولوژی سلولی حشرات (به انضمام روش های تهیه سازه های بیانی باکولوویروسی و پروتکل های تولید پروتئین نوترکیب)

مؤلفین: کارل ماراموروش - آرتوراج. مکینتاش

تألیف و ترجمه: حسن بخشی، سمیه صادقی، حمزه علیپور

تهران، نشر دا، چاپ اول ۱۳۹۸ / شابک: ۸-۶۶-۶۰۳۵-۶۲۲-۹۷۸

موضوع: تکنولوژی زیستی باخته های حشرات / Insect cell biotechnology

شناسه افزوده: ماراموروش، کارل، ۱۹۱۵-۲۰۱۶م. ویراستار / مکینتاش، آرتوراج. ۱۹۳۲-م. ویراستار

شماره افزوده: بخشی حسن، مترجم / صادقی سمیه، مترجم / علیپور حمزه، مترجم

ویراست: سارا عزیزی شالباف

رد. بندی کنگه: ۲۷/۲۴۸TP

رده بندی: ۱۱: ۶۳۲

شماره کتابشناسی: ۵۸۶۶۶

شناسه

بیوتکنولوژی سلولی حشرات (به انضمام روش های تهیه سازه های بیانی باکولوویروسی و پروتکل های تولید پروتئین نوترکیب)

مؤلفین: کارل ماراموروش - آرتوراج. مکینتاش

تألیف و ترجمه: حسن بخشی، سمیه صادقی، حمزه علیپور

تهران، نشر دا، چاپ اول ۱۳۹۸ / شابک: ۸-۶۶-۶۰۳۵-۶۲۲-۹۷۸

صفحه آرای، طراحی جلد و ویراستار: سارا عزیزی شالباف

تیراژ: ۵۰۰ / قیمت: ۴۰۰۰۰ تومان

حق چاپ و نشر محفوظ است. طبق حقوق نویسندگان و مصنفان هرگونه کپی برداری به هر روش پیگرد قانونی دارد.

آدرس: میدان انقلاب - خیابان جمالزاده جنوبی - ساختمان ۱۱۰ - طبقه ۴ - واحد ۱۷.

تلفن: ۰۲۱۶۶۱۲۶۸۰۳

آدرس الکترونیک: nashrda@yahoo.com

۹	مقدمه مؤلفین و مترجمین
۱۵	فصل اول: بیان ژن های خارجی در سلول های حشره با استفاده از وکتورهای باکولوویروس
۱۵	۱-۱ مقدمه
۱۶	۲-۱ وکتورهای بیانی باکولوویروس
۱۶	۱-۲-۱ سازمان های و بیان ژنوم باکولوویروس
۱۷	۲-۲-۱ وکتورهای بیانی باکولوویروس
۱۷	۱-۲-۲-۱ مزایا
۱۸	۲-۲-۲-۱ ساخت باکولوویروس نو ترکیب
۱۹	۳-۲-۲-۱ سازه های ژن درجه دوم آن ها به درون وکتورهای ناقل باکولوویروس
۱۹	۳-۲-۱ پروموتورهای مورد استفاده برای بیان پیش بیان ژن خارجی
۲۰	۱-۳-۲-۱ پروموتور پلی هیدرین
۲۰	۲-۳-۲-۱ پروموتور p10
۲۱	۳-۳-۲-۱ سایر پروموتورهای ژن های مرحله تأخیر باکولوویروس
۲۱	۴-۳-۲-۱ پروموتورهای ژن های مرحله اولیه باکولوویروس
۲۱	۵-۳-۲-۱ پروموتورهای کایمر یا تغییر یافته
۲۲	۶-۳-۲-۱ پروموتورهای غیر باکولوویروسی و حشره ی میزبان
۲۲	۴-۲-۱ وکتورهای بیانی تولیدکننده ی ویروس های ناکارآمد در بیان پلی هیدرین
۲۲	۱-۴-۲-۱ وکتورهای ناقل متداول
۲۴	۲-۴-۲-۱ وکتورهای ناقل فیوژن پلی هیدرین
۲۴	۳-۴-۲-۱ وکتورهای ناقل برای بیان هم زمان دو ژن
۲۵	۵-۲-۱ رویکردهای بهبود یافته برای جداسازی و شناسایی ویروس های نو ترکیب
۲۵	۱-۵-۲-۱ جداسازی با روش های رقیق سازی و هیبریداسیون DNA
۲۵	۲-۵-۲-۱ DNA ویروسی والدی خطی شده
۲۶	۳-۵-۲-۱ مارکر β -گالاکتوزیداز
۲۷	۴-۵-۲-۱ مارکر پلی هیدرین-مثبت
۲۷	۵-۵-۲-۱ وکتورهای شاتل مخمر-باکولوویروس

- ۲۸..... ۶-۵-۲-۱ سایر رویکردهای جداسازی
- ۲۹..... ۶-۲-۱ بیان وابسته به میزبان زن خارجی
- ۳۰..... ۳-۱ خصوصیات محصولات زن خارجی بیان شده
- ۳۰..... ۱-۳-۱ پردازش پروتئولیتیک
- ۳۰..... ۱-۱-۳-۱ برش توالی راهنما و ترشح
- ۳۱..... ۲-۱-۳-۱ برش پروتئولیتیک داخلی
- ۳۲..... ۲-۳-۱ گلیکوزیلاسیون
- ۳۵..... ۳-۲-۱ ف-فریلاسیون
- ۳۷..... ۳-۱-۳-۱ امیداسیون انتهای C
- ۳۸..... ۵-۳-۱ آسید پپتیداز
- ۳۹..... ۶-۳-۱ لالیست
- ۴۰..... ۷-۳-۱ اولیومر
- ۴۱..... ۸-۳-۱ اجتماع دراز
- ۴۴..... ۴-۱ بیان زنهای خارجی در لار حشرات
- ۴۶..... ۵-۱ بیان زن خارجی برای کنترل آفات حشرات
- ۵۱..... ۶-۱ نتیجه گیری
- ۶۵..... فصل دوم: تولید باکولوویروس ها برای کنترل حشرات با استفاده از کشت سلولی
- ۶۵..... ۱-۲ مقدمه
- ۶۵..... ۱-۱-۲ آفت کش های ویروسی
- ۶۶..... ۲-۱-۲ طبقه بندی باکولوویروس ها
- ۶۷..... ۳-۱-۲ چرخه تکثیر باکولوویروس
- ۶۷..... ۲-۲ اثرات عوامل زیستی بر روی تولید درون آزمایشگاهی
- ۶۸..... ۱-۲-۲ مقایسه سیستم های درون آزمایشگاهی تولید
- ۶۸..... ۱-۱-۲-۲ تولید ویروس در دردهای سلولی مختلف
- ۷۲..... ۲-۱-۲-۲ تولید باکولوویروس های مختلف
- ۷۵..... ۲-۲-۲ مقایسه فرایندهای تولید
- ۷۵..... ۱-۲-۲-۲ تعدد عفونت زایی
- ۷۷..... ۲-۲-۲-۲ اثر پاستور

۷۷	۳-۲-۲-۲ پارامترهای سلولی
۷۹	۴-۲-۲-۲ شرایط برداشت و ذخیره سازی
۷۹	۳-۲ اثر عوامل فیزیکی و شیمیایی بر روی تولید درون آزمایشگاهی
۷۹	۱-۳-۲ دما
۸۰	۲-۳-۲ محیط کشت
۸۰	۱-۲-۳-۲ مشخصات عمومی
۸۰	۲-۲-۳-۲ ترکیبات خاص
۸۴	۳-۳-۲ وسایل تولید
۸۴	۱-۳-۳-۲ حالت رشد سلولی
۸۵	۲-۳-۳-۲ مرادهمی
۸۶	۳-۳-۳-۲ پیکربندی
۸۷	۴-۲ مهندسی ژنتیک افزایشی و ویسی
۸۷	۱-۴-۲ اهداف و مثال های مهندسی
۸۷	۱-۱-۴-۲ افزایش ویروانس
۸۸	۲-۱-۴-۲ گسترش دامنه میزبانی
۸۸	۲-۴-۲ ملاحظات مهندسی ژنتیک
۸۸	۱-۲-۴-۲ اثرات پروتئین و ویروس نو ترکیب
۸۹	۲-۲-۴-۲ تأثیر پروموتور
۹۰	۳-۲-۴-۲ نگرانی های مرتبط با پردازش
۹۰	۵-۲ نتیجه گیری
۹۹	فصل سوم: اختصاصیت باکولوو ویروس ها
۹۹	۱-۳ مقدمه
۱۰۱	۲-۳ خصوصیات عمومی
۱۰۲	۳-۳ ویروس های پلی هیدروسیس هسته ای
۱۰۲	۱-۳-۳ ویروس های پلی هیدروسیس هسته ای چندگانه (MNPVs)
۱۰۶	۲-۳-۳ ویروس های پلی هیدروسیس هسته ای منفرد (SNPVs)
۱۰۷	۴-۳ گرانولوسیسی ویروس ها (GVs)
۱۰۷	۵-۳ نان آکلود باکولوو ویروس ها (NOBs)

۱۰۸	۶-۳ باکولوویروس های نو ترکیب به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک
۱۰۸	۷-۳ نتیجه گیری
	فصل چهارم: کاربرد کشت سلول های حشرات برای مطالعه توکسین های باسیلوس
۱۱۷	تورنجنسیس
۱۱۷	۱-۴ مقدمه
۱۱۸	۲-۴ مطالعه ی توکسین های نشان دهنده ی اختصاصیت لپیدوپترا
۱۲۸	۳-۴ مطالعه ی توکسین های نشان دهنده ی اختصاصیت دیپترا
۱۳۲	۴-۴ اظهارات پایانی
۱۳۷	نسخه پنجم: تولید سلول های حشرات در مقیاس بالا
۱۳۷	۱-۵ مقدمه
۱۳۸	۲-۵ ملزومات کشت سلول حشرات در مقیاس بالا: انتخاب رده سلولی حشرات و وکتورهای بیانی
۱۴۷	۳-۵ کشت سلول حشرات در مقیاس بالا در بیوراکتورها
۱۵۳	۴-۵ توسعه محیط کشت و عاریت ارسیم
۱۵۵	۵-۵ اظهارات پایانی
	فصل ششم: روش های تهیه سلول های بیانی باکولوویروسی و پروتکل های تولید پروتئین
۱۶۳	نو ترکیب
۱۶۳	۱-۶ سیستم های بیانی سلول حشره
۱۶۳	۱-۱-۶ سیستم وکتور بیانی باکولوویروس Bac TM -Bac
	۲-۶ طراحی کلونینگ پرایمر و PCR جهت تکثیر ژن برای بیان: سیستم بیانی باکولوویروس
۱۶۴	Bac-to-Bac
۱۶۶	۳-۶ کلونینگ زن مورد نظر در وکتور pTG19 شرکت Vivantis
۱۶۶	۱-۳-۶ کلونینگ TA-Cloning به منظور تکثیر کل mRNA
۱۶۷	۱-۳-۶ ویژگی های وکتور pTG19-T
۱۶۹	۴-۳-۶ الحاق وکتور pTG19 و قطعه مورد نظر توسط آنزیم Ligase
۱۶۹	۵-۳-۶ تهیه سلول های مستعد
۱۷۰	۶-۳-۶ ترانسفورماسیون
۱۷۱	۴-۶ روش تهیه ی آمپی سیلین ۵۰ mg/ml
۱۷۱	۵-۶ روش تهیه ی IPTG ۱۰۰ میلی مولار

۱۷۲.....	۶-۶ روش تهیهی X-gal
۱۷۲.....	۷-۶ انتخاب کلون‌های حاوی ژن موردنظر
۱۷۳.....	۸-۶ پروتکل استخراج پلاسمید به روش دستی
۱۷۴.....	۹-۶ پروتکل ارزیابی کمی و کیفی پلاسمید استخراج شده
۱۷۴.....	۱۰-۹-۶ انتخاب کلون‌های مثبت و تأیید آن‌ها از طریق الکتروفورز روی ژل آگارز
۱۷۴.....	۱۰-۶ انجام عملیات برش آنزیمی با آنزیم‌های SphI و SpeI
۱۷۵.....	۱۱-۶ آماده‌سازی وکتور ناقل pFastBac HTA
۱۷۶.....	۱۲-۶ الحاق و انسفو، ماسیون
۱۷۸.....	۱۳-۶ آماده‌سازی DN با کلو ویروسی نوترکیب (Bacmid)
۱۷۹.....	۱۴-۶ استخراج پلاسمید Bacmid به روش دستی
۱۸۰.....	۱۵-۶ آنالیز یکمید نوک خیب با روش PCR
۱۸۲.....	۱۶-۶ کشت سلول حشر
۱۸۲.....	۱-۱۶-۶ ترانسفکت نمودن سلول‌های حشر
۱۸۴.....	۲-۱۶-۶ جداسازی استوک ویروسی
۱۸۴.....	۳-۱۶-۶ آماده نمودن استوک ویروسی
۱۸۵.....	۴-۱۶-۶ جداسازی پارتیکل ویروسی و تکثیر آن
۱۸۵.....	۱۷-۶ تهیه و تکثیر استوک با کلو ویروسی P2
۱۸۶.....	۱۸-۶ محاسبه مقدار استوک مورد نیاز ویروسی P1 برای تهیه ویروسی P2
۱۸۶.....	۱۹-۶ روش تکثیر با کلو ویروس نوترکیب P2
۱۸۷.....	۲۰-۶ روش تکثیر استوک ویروسی P3
۱۸۷.....	۲۱-۶ بیان پروتئین نوترکیب
۱۸۷.....	۱-۲۱-۶ سیستم بیانی ترشحی سلول حشره
۱۸۸.....	۲-۲۱-۶ طراحی پرایمر جهت کلون نمودن ژن فرضی در وکتور pMIB/V5-His A
۱۸۹.....	۳-۲۱-۶ تهیه سلول باکتریایی مستعد DH10Bac <i>E. coli</i>
۱۹۰.....	۴-۲۱-۶ ترانسفکشن سلول SF9 و آماده‌سازی سلول‌های مناسب
۱۹۰.....	۲۲-۶ ارزیابی پروتئین نوترکیب
۱۹۰.....	۱-۲۲-۶ روش SDS-PAGE
۱۹۱.....	۱-۱-۲۲-۶ ژل تحتانی یا ژل جداکننده SDS-PAGE

- ۱۹۱..... SDS-PAGE ژل فوقانی ۲-۱-۲۲-۶
- ۱۹۳..... ۲-۲۲-۶ ارزیابی کیفی پروتئین نو ترکیب با روش وسترن بلاتینگ
- ۱۹۶..... ۲۳-۶ تهیه محصول سلولی SF9
- ۱۹۷..... ۲۴-۶ آماده سازی لیز سلولی SF9 برای شرایط هیبرید
- ۲۰۱..... ضمیمه: اطلس رنگی

www.ketab.ir

بیوتکنولوژی را نمی‌توان یک علم پایه تلقی کرد که بتوان محدوده و قلمرو آن را به سادگی تعریف نمود بلکه بیوتکنولوژی شامل حوزه‌ای مشترک از علوم مختلف است که در اثر همپوشانی و تلاقی این علوم با یکدیگر به وجود آمده است. بیوتکنولوژی معادل زیست‌شناسی مولکولی، مهندسی ژنتیک، مهندسی شیمی یا هیچ‌یک از علوم سنتی و مدرن موجود نیست؛ بلکه پیوند میان این علوم در جهت تحقق بخشیدن به تولید بهینه یک محصول زیستی یا انجام یک فرآیند زیستی با روش‌های نوی و دقیق با کارایی بسیار بالا می‌باشد.

کاربرد بیوتکنولوژی در پزشکی به وسعت علم پزشکی بوده است و حتی این علم با سرعت روزافزون بر وسعت و دامنه علم پزشکی می‌افزاید. امروزه پیشرفت‌های پزشکی به مدد بیوتکنولوژی در حال سرعت گرفتن می‌باشد. پزشکی سنتی به تدریج جای خود را به پزشکی مولکولی خواهد داد. در آینده نه‌چندان دور مکانیسم تشخیص بیماری ناشناخته نخواهد ماند و تقریباً اکثر بیماری‌ها قابل کنترل خواهند بود. امروزه با توسعه روش‌هایی از جمله CRISPR-Cas9 تحول بسیار بزرگی در شناخت، کنترل و درمان بیماری‌های عفونی، و غیره، مقونی صورت گرفته است و استفاده از سلول‌های رده حشرات در تحقیقات و تولید فراورده‌های بیولوژیک در سراسر دنیا مورد علاقه دانشمندان علم بیوتکنولوژی قرار گرفته و دارو و واکسن‌های زیستی از جمله واکسن H1N1 در رده سلولی حشره تولید می‌شود.

ریشه‌های بیوتکنولوژی را بعضاً رشته‌هایی همانند زیست‌شناسی، ویژه زیست‌شناسی مولکولی، ژنتیک، میکروبیولوژی، بیوشیمی، ایمونولوژی، شیمی، مهندسی شیمی، مهندسی بیوشیمی، گیاه‌شناسی، جانورشناسی، داروسازی، کامپیوتر و... تشکیل می‌دهند. بر این اساس روزه‌روز بر رشته‌های جدیدتری در این زمینه افزوده می‌گردد. تقسیم‌بندی بیوتکنولوژی به شاخه‌های مختلف نیز برحسب دیدگاه متخصصین و دانشمندان مختلف فرق می‌کند و در رایج‌ترین تقسیم‌بندی از تلاقی و پیوند علوم مختلف با بیوتکنولوژی استفاده می‌کنند و نام شاخه‌ای از بیوتکنولوژی را بدین ترتیب وضع می‌کنند. مانند بیوتکنولوژی پزشکی که از تلاقی بیوتکنولوژی با علم پزشکی به وجود آمده است یا بیوتکنولوژی کشاورزی که کاربرد بیوتکنولوژی در کشاورزی را نشان می‌دهد. بدین ترتیب می‌توان از بیوتکنولوژی دارویی Pharmaceutical Biotechnology، بیوتکنولوژی میکروبی، Microbial Biotechnology، بیوتکنولوژی دریا - Marine Bio-

tech، بیوتکنولوژی قضائی یا پزشکی قانونی Forensic Biotech، بیوتکنولوژی محیطی Environmental Biotech، بیوتکنولوژی غذایی food and food stuff Biotech و ... نام برد. این رشته‌های متنوع در عمل همپوشانی‌ها و پیوندهای متقاطع زیادی دارند، اما به دلیل ماهیت همه‌جانبه بودن بیوتکنولوژی نمی‌توان در این مورد نیز با قاطعیت مرزهایی را برای آن‌ها مشخص نمود. تنوع و گستردگی کاربرد بیوتکنولوژی در قرن بیست و یکم به اندازه‌ای است که، اقتصاد، بهداشت، درمان، محیط زیست، آموزش، کشاورزی، صنعت، تغذیه و سایر جنبه‌های زندگی بشر را تحت تأثیر شگرف خود قرار خواهد داد. به همین دلیل اندیشمندان جهان قرن بیست و یکم را قرن بیوتکنولوژی نام‌گذاری کرده‌اند.

در کتاب حاضر سعی شده است تا بسیاری از واژه‌های علمی به همراه معادل انگلیسی آن‌ها ارائه گردد. هدف از این است که خوانندگان گرامی را به مطالعه بیوتکنولوژی برپایه سیستم‌های بیانی و رده سلول حشرات تشویق نماید و کمک کوچکی در فهم و یادگیری آن‌ها بنماید. از طرفی دیگر، شناخت و دسته‌بندی واژه‌های بیوتکنولوژی و ارتباط بین آن‌ها می‌تواند خواننده را برای مطالعه متون علمی پیشرفته ترآماد نماید.

در حقیقت دلیل اصلی مؤلفی، مترجمین در نگارش این کتاب به علت کمبود کتاب ترجمه شده در این زمینه است. کتب زیاد در زمینه‌های مختلف بیولوژی و بیوتکنولوژی منتشر شده‌اند، که به طور تخصصی موضوعاتی را مورد بحث قرار داده‌اند اما در زمینه بیوتکنولوژی حشرات مطالب به زبان فارسی محدود است. برگرداندن تعداد زیادی از کتاب‌های علمی می‌تواند مجموعه بسیار غنی را در دسترس علاقه‌مندان قرار دهد. امید است که با پیشرفت سریع تر آموزش در سطح دانشگاه‌های کشور و با امکان تأسیس آزمایشگاه‌های به صرفه بتوان دانشجویان علاقه‌مند دوره‌های کارشناسی، کارشناسی ارشد و دکتری را آموزش داد و توانایی و پتانسیل آن در پروژه‌های تحقیقاتی استفاده نمود و شاهد تولید فراورده‌های جدید باشیم تا به حدی پروردگار باعث ارتقای وضعیت علمی کشور عزیزمان گردیم. لذا مؤلفین خود را موظف می‌دانند تا با تألیف و ترجمه متون پیشرفته تر و ارائه آخرین تحولات دانش بیوتکنولوژی برای دانشجویان کشور در آینده کوشا تر باشند.

کتاب حاضر که حاصل ترجمه پنج فصل ابتدایی کتاب Insect cell biotechnology و همچنین یک فصل کاربردی با عنوان روش‌های تهیه سازه‌های بیانی با کلوویروسی و پروتکل‌های تولید پروتئین نوترکیب می‌باشد، مقدمه‌ای است برای دانشجویان و اساتید محترمی که در زمینه استفاده از وکتورهای بیانی برپایه ویروس‌ها و سلول‌های رده حشرات علاقه‌مند به پژوهش و تولید

فراورده‌های نو ترکیب هستند. این کتاب برای دانشجویان رشته‌های بیولوژی و کنترل ناقلین، بیوتکنولوژی و حشره شناسی توصیه می‌گردد. در پایان مؤلفین و مترجمین کتاب حاضر، اذعان می‌دارد که تهیه این مجموعه خالی از اشتباهات چاپی و نارسایی‌های علمی نمی‌باشد لذا از تمامی خوانندگان گرامی، اساتید ارجمند و دانشجویان عزیز تقاضا می‌شود تا با نظرات ارزشمند خود در رفع مشکلات مزبور و بهبود چاپ‌های بعدی نگارندگان را یاری فرمایند.

حسن بخشی

سمیه صادقی

دکتر حمزه علیپور